

**Serumaktivitäten, Serumkonzentrationen
und Aussagekraft von Leberparametern
in der Diagnostik von Lebererkrankungen
des Kaninchens**

von

Anka Leban-Danzl

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

**Serumaktivitäten, Serumkonzentrationen
und Aussagekraft von Leberparametern
in der Diagnostik von Lebererkrankungen
des Kaninchens**

von
Anka Leban-Danzl
aus Kaufering

München 2018

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Mitbetreuung durch:

Dr. Jutta Hein

**Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Rüdiger T. Korbel

Tag der Promotion: 27. Juli 2018

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	1
II	LITERATURÜBERSICHT	3
1	Leberenzyme	3
1.1	Alaninaminotransferase	3
1.1.1	Gewebeverteilung und Leberspezifität	4
1.1.2	Referenzbereich	4
1.1.3	Anstieg der Enzymaktivität im Serum	5
1.2	Aspartataminotransferase	6
1.2.1	Gewebeverteilung und Leberspezifität	6
1.2.2	Referenzbereich	6
1.2.3	Anstieg der Enzymaktivität im Serum	7
1.3	Alkalische Phosphatase	7
1.3.1	Gewebeverteilung und Leberspezifität	7
1.3.2	Referenzbereich	8
1.3.3	Anstieg der Enzymaktivität im Serum	8
1.4	Glutamatdehydrogenase	9
1.4.1	Gewebeverteilung und Leberspezifität	9
1.4.2	Referenzbereich	9
1.4.3	Anstieg der Enzymaktivität im Serum	10
1.5	γ -Glutamyltransferase.....	10
1.5.1	Gewebeverteilung	10
1.5.2	Referenzbereich	10
1.5.3	Anstieg der Enzymaktivität im Serum	11
2	Leberspezifische Substrate	11
2.1	Gesamteiweiß	12
2.1.1	Entstehung und Abbau	12
2.1.2	Referenzbereich	12
2.1.3	Veränderung der Gesamteiweißkonzentration im Serum.....	13
2.1.3.1	Hyperproteinämie	13
2.1.3.2	Hypoproteinämie	13
2.2	Albumin	13

2.2.1	Entstehung und Abbau	13
2.2.2	Referenzbereich	14
2.2.3	Veränderung der Albuminkonzentration im Serum.....	14
2.2.3.1	Hyperalbuminämie.....	14
2.2.3.2	Hypalbuminämie.....	14
2.3	Bilirubin	15
2.3.1	Entstehung und Abbau	15
2.3.2	Referenzbereich	15
2.3.3	Veränderung der Bilirubinkonzentration im Serum	16
2.3.3.1	Hyperbilirubinämie	16
2.3.3.2	Hypobilirubinämie	16
2.4	Harnstoff	16
2.4.1	Entstehung und Abbau	17
2.4.2	Referenzbereich	17
2.4.3	Veränderung der Harnstoffkonzentration im Serum.....	17
2.4.3.1	Anstieg der Harnstoffkonzentration.....	17
2.4.3.2	Abfall der Harnstoffkonzentration	18
2.5	Glukose	18
2.5.1	Entstehung und Abbau	18
2.5.2	Referenzbereich	19
2.5.3	Veränderung der Glukosekonzentration im Serum.....	19
2.5.3.1	Hyperglykämie.....	19
2.5.3.2	Hypoglykämie.....	20
III	PUBLIKATION.....	21
IV	DISKUSSION	39
V	ZUSAMMENFASSUNG	60
VI	SUMMARY	62
VII	LITERATURVERZEICHNIS	64
VIII	DANKSAGUNG	74

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ALT	Alaninaminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartataminotransferase
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
CK	Kreatinkinase
<i>E.</i>	<i>Eimeria</i>
γ -GT	Gamma-Glutamyltransferase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GOT	Glutamatoxalacetattransaminase (= AST)
GPT	Glutamatpyruvattransaminase (= ALT)
IU	International Unit (Internationale Einheit)
nkat	Nanokatal
p	propability-value (p-Wert)
r	Korrelationskoeffizient
RHD	Rabbit Haemorrhagic Disease
SI	Système international d'unités (Internationales Einheitensystem)

I EINLEITUNG

Für das Kaninchen liegen anhand von umfangreichen Studien ermittelte Referenzbereiche für Leberparameter vor (HEIN & HARTMANN, 2003). Diese haben beim als Heimtier gehaltenen Kaninchen im Zuge der heutigen Diagnostik ähnliche Bedeutung wie bei Hund und Katze erlangt.

Obgleich Hepatopathien, wie zum Beispiel die Leberkokzidiose und die Gallengangskokzidiose (HEIN & LÄMMLER, 1978; JOYNER et al., 1983; RAGNITZ, 1983; GOMEZ-BAUTISTA et al., 1987; ABDEL-GHAFFAR et al., 1990), in der Vergangenheit häufig beschrieben wurden, fehlen Daten zu Zusammenhängen zwischen dem Anstieg von Leberenzymaktivitäten und Hepatopathien. Bei induzierter Leberfibrose/-zirrhose (BRANDAO et al., 2000), experimentell provozierter hepatobiliärer Obstruktion (ADJAROV et al., 1976; HADJIS et al., 1990) und bei Leberlappentorsion (STANKE et al., 2011; GRAHAM et al., 2014) wurde die diagnostische Aussagekraft von Leberenzymen bereits untersucht. Veränderungen der Substratkonzentrationen (Bilirubin, Albumin, Gesamteiweiß, Harnstoff und Glukose) liefern laut Literatur keine eindeutigen diagnostischen Hinweise auf eine Hepatopathie (FOX, 1989; MC LAUGHLIN & FISH, 1997; BRANDAO et al., 2000; MEREDITH & RAYMONT, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005; WILLARD & TWEDT, 2006). Einerseits könnten Konzentrationsveränderungen durch eine Lebererkrankung, andererseits durch eine Vielzahl anderer Ursachen bedingt sein (SAUNDERS & DAVIES, 2005). Was bis heute fehlt, sind klinische Studien, in denen die Sensitivität von Leberparametern untersucht und die diagnostische Aussagekraft von Leberparametern mittels Kennwerten definiert wird.

Schwerpunkt dieser Arbeit war deshalb die Auswertung von leberspezifischen Laborparametern in Bezug auf pathohistologische und zytologische Befunde von 77 als Haustier gehaltenen Kaninchen. Weiterhin wurde die Sensitivität jedes Leberparameters errechnet. Ziel war es, Anhaltspunkte für die klinische Relevanz der einzelnen Leberparameter zu erhalten.

II LITERATURÜBERSICHT

Zu den Leberparametern zählen die Leberenzyme und die leberspezifischen Substrate. Beide werden im Folgenden näher beschrieben.

1 Leberenzyme

Enzyme sind Biokatalysatoren. Ihre katalytische Wirkung wird als Enzymaktivität bezeichnet (KRIEGEL & SCHELLENBERGER, 2014). Die Bestimmung von Enzymaktivitäten im Blut ist zu einem unverzichtbaren Instrument in der Labordiagnostik geworden. Der Enzymgehalt kann sich im Blut nach pathologischen Prozessen in Organen derart verändern, dass der Serumenzymaktivität eine Indikatorfunktion für den Zustand von Zelle, Gewebe und Organ zukommt (KRIEGEL & SCHELLENBERGER, 2014). Sowohl eine hepatozelluläre Schädigung als auch eine Cholestase kann bei den verschiedenen Tierarten durch Messung von Leberenzymaktivitäten erkannt werden (ALLISON, 2012). CLAMPITT und HART (1978) wiesen darauf hin, dass unter anderem die gewebespezifische Verteilung eines Enzyms für die jeweilige Tierart berücksichtigt werden muss, bevor eine Erhöhung der Enzymaktivität als diagnostisches Hilfsmittel genutzt werden kann. KRAFT und Mitarbeiter (2005) betonten, dass eine Erhöhung der Aktivität leberspezifischer Enzyme auf eine Lebererkrankung hinweist, die Unterscheidung zwischen primärer Lebererkrankung und sekundärer – bedingt durch andere Organkrankheiten oder Arzneimittelwirkung – jedoch nicht möglich ist. Bei Vorliegen einer erhöhten Enzymaktivität der nicht leberspezifischen Enzyme muss geprüft werden, ob andere Organe erkrankt sind, die ebenso für solch eine Aktivitätserhöhung ursächlich sein können (Kraft et al., 2005).

1.1 Alaninaminotransferase

Im Folgenden wird auf die Gewebeverteilung und Leberspezifität, auf den Referenzbereich und die Ursachen des Anstiegs der Serumaktivität der Alaninaminotransferase (ALT) eingegangen.

1.1.1 Gewebeverteilung und Leberspezifität

Die monolokulär zytoplasmatisch gelegene ALT (früher Glutamatpyruvattransaminase [GPT]) (KRAFT et al., 2005) hat beim Kaninchen eine Halbwertszeit von fünf Stunden (JENKINS, 2000). Die ALT wird in IU/l (SI-Einheit) und in nkat/l (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005). Die ALT übernimmt in der Leber im Harnstoffzyklus die Umwandlung von Alanin und α -Ketoglutarat in Glutamat und Pyruvat (Röhm, 2014).

Die ALT des Kaninchens zeigt laut einer Studie von CLAMPITT und HART (1978) eine im Vergleich zu Carnivoren eher niedrige Aktivität in der Leber (56 IU/l). Die Gewebeaktivität in diesem Organ ist genauso hoch wie im Herzgewebe (56 IU/l). Eine deutlich niedrigere Gewebeaktivität wurde in der Nierenrinde (20 IU/l) und in der Darmmukosa (16 IU/l) nachgewiesen. CLAMPITT und HART (1978) ermittelten die niedrigsten ALT-Aktivitäten im Gehirn (2,4 IU/l), in der Skelettmuskulatur (1,6 IU/l) und in der Lunge (1,6 IU/l). Einerseits ist beschrieben, dass die Leberspezifität der ALT beim Kaninchen niedrig ist (CLAMPITT & HART, 1978; MERIDITH & RAYMENT, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005; JENKINS, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002; HEIN & HARTMANN, 2003), andererseits wird die ALT nach BOYD (1983) und in Übereinstimmung mit MC LAUGHLIN und FISH (1997) zu den leberspezifischen Enzymen gezählt. Ebenso wird ihre Indikatorfunktion für hepatozelluläre Schäden zum einen infrage gestellt (CLAMPITT & HART, 1978; HOFFMANN et al., 1989; JENKINS, 2000), zum anderen dagegen durchaus in Betracht gezogen (SAUNDERS & DAVIES, 2005; CAMPELL, 2012).

1.1.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die ALT-Aktivität im Blut wird mit 0–61 IU/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Es wird sowohl über einen Geschlechtseinfluss mit höheren Enzymaktivitäten bei männlichen Tieren (FÖRG, 1970; RAGNITZ, 1993) als auch über den Einfluss durch Nahrungsprotein berichtet (JENKINS, 2000). Dabei soll durch Verschlechterung der Proteinqualität die Aktivität der ALT im Blut steigen (JENKINS, 2000).

1.1.3 Anstieg der Enzymaktivität im Serum

Manche Autoren beschreiben, dass das Ausmaß eines hepatozellulären Schadens mit der Höhe der ALT-Aktivität korreliert (SINHA & SARAN, 1972; JENKINS, 2000; KRAFT, 2005; CAMPBELL, 2012). SAUNDERS und DAVIES (2005) widersprechen dem. ALT-Aktivitätserhöhungen bei Kaninchen wurden häufig in Zusammenhang mit Leberzellschädigung und -nekrose beschrieben (HEIN, 1977; KENDLINGER, 1983; GOMEZ-BAUTISTA et al., 1987; ABDEL-GHAFFAR et al., 1990; REZNIK & PADBERG, 1991; RAGNITZ, 1993; BRANDAO et al., 2000; FITZGERALD & FITZGERALD, 2009; WENGER & BARETT, 2009). Maximale ALT-Aktivitätsanstiege bis zum 28- und 33-fachen des oberen Referenzwertes wurden beispielsweise bei Kaninchen mit Leberlappentorsion gesehen (FITZGERALD & FITZGERALD, 2009; WENGER & BARETT, 2009). Signifikante ALT-Aktivitätserhöhungen sind in der Literatur bei Kaninchen bei experimentellen Infektionen mit *Eimeria (E.) stiedae* (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993), *Capillaria hepatica* (WINKELMANN, 1974), Mischinfektion mit *E. pellerdyi* und *Escherichia coli* (RAGNITZ, 1993) sowie bei Mykotoxinbelastung durch Aflatoxine (FEKETE & HUSZENICZA, 1993) belegt. Weiterhin finden sich Angaben zu signifikanten ALT-Aktivitätsanstiegen bei Kaninchen nach induzierter Leberfibrose (MASTAI et al., 1996), induzierter Leberzirrhose (BRANDAO et al., 2000), nach Leberlappentorsion (WENGER & BARETT, 2000; FITZGERALD & FITZGERALD, 2009; STANKE et al., 2011; GRAHAM et al., 2014) und bei Neoplasie (REZNIK & PADBERG, 1991). ALT-Aktivitätsanstiege wurden aber auch in Zusammenhang mit Glukokortikoidgaben, die bei Kaninchen eine sogenannte „glucocorticoid induced hepatitis“ verursachen können (MESTTECHKINA & MISHUNINA, 1977; TENNANT & BALAZS, 1981; JENKINS, 2000), und bei gastrointestinalen Störungen (Enteritiden, „gastric stasis syndrome“) (JENKINS, 2000; RAGNITZ, 1993) erwähnt.

Erhöhungen der ALT-Aktivität gemeinsam mit der der Aspartataminotransferase (AST) und der γ -Glutamyltransferase (γ -GT) sowie einer Konzentrationserhöhung des Bilirubins wurden in Zusammenhang mit einer Leberkokzidiose beschrieben (HEIN, 1977; MATHES & RAGNITZ, 1999; HARCOURT-BROWN, 2002). Ein paralleler Anstieg der ALT- und AST-Aktivität wurde auch bei der Leberzirrhose (BRANDAO et al., 2000), der Leberfibrose (MASTAI et al., 1996), der Rabbit

Haemorrhagic Disease (RHD) (FERREIRA et al., 2006) sowie einer *Capillaria-hepatica*-Infektion (WINKELMANN, 1974) belegt.

1.2 Aspartataminotransferase

Im Folgenden wird auf die Gewebeverteilung und Leberspezifität, den Referenzbereich und die Ursachen für den Anstieg der Serumaktivität der AST eingegangen.

1.2.1 Gewebeverteilung und Leberspezifität

Die bilokulär im Zytoplasma und in den Mitochondrien vorkommende AST (früher Glutamatoxalacetattransaminase [GOT]) (FISCHER, 1977; KRAFT et al., 2005) hat beim Kaninchen eine Halbwertszeit von 90 Minuten (BOGIN et al., 1977). Die AST wird in IU/l (SI-Einheit) und in nkat/l (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005). Die AST transaminiert im Harnstoffzyklus der Leber Glutamat zu Aspartat und ist somit mitbeteiligt an den Entgiftungsprozessen in der Leber (Röhm, 2014).

Die AST ist, wie auch bei Hund und Katze, beim Kaninchen nicht organspezifisch (CLAMPITT & HART, 1978; HOFFMANN et al., 1989; KRAFT et al., 2005). Vielmehr kommt sie mit unterschiedlicher Aktivität in zahlreichen Geweben vor; beim Kaninchen insbesondere in der Herzmuskulatur (118 IU/l), der Leber (110 IU/l), dem Gehirn (48 IU/l), den Nieren (37 IU/l), dem Darm (28 IU/l) und in der Skelettmuskulatur (14 IU/l) (CLAMPITT & HART, 1978; KELLER, 1979; BENSON & PAUL-MURPHY, 1999). Sie gilt für das Kaninchen somit als nicht leberspezifisch (SAUNDERS & DAVIES, 2005). Das bilokuläre Vorkommen dieses Enzyms und die hohen Gewebeaktivitäten machen sie jedoch zu einem empfindlichen Indikator für einen allgemeinen Gewebeschaden (HOFFMANN et al., 1989). So kann beim Kaninchen allein körperliche Verausgabung oder auch eine Gewebeschädigung bei der Blutentnahme schon zu einer leichten Erhöhung der Serumenzymaktivität der AST führen (HARCOURT-BROWN, 2002).

1.2.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die Serumaktivität der AST wird mit 0–28 IU/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Als Einflussfaktoren werden Rasse (FÖRG, 1970) und Geschlecht genannt, wobei männliche Tiere signifikant höhere

Serumaktivitäten haben (FÖRG, 1970; RAGNITZ, 1993). Ein Geschlechtsunterschied konnte von HEBOLD und BLEUEL (1973) jedoch nicht nachgewiesen werden. Bei Fütterung von niedriger Eiweißqualität steigt die Aktivität der AST (TILLE et al., 1969; FÖRG, 1970).

1.2.3 Anstieg der Enzymaktivität im Serum

Signifikante AST-Aktivitätserhöhungen sind in der Literatur im Zuge von experimentell induzierter Gallengangskokzidiose (HEIN, 1977; GOMEZ-BAUTISTA et al., 1987; ABDEL-GHAFFAR et al., 1990; RAGNITZ, 1993; MATHES & RAGNITZ, 1999), Leberzirrhose (BRANDAO et al., 2000), Leberfibrose (MASTAI et al., 1996) und bei *Capillaria-hepatica*-Infektion (WINKELMANN, 1974) beschrieben. Muskelschädigung, Koagulation, *In-vivo*- und *In-vitro*-Hämolyse sowie eine Enteritis können die AST-Aktivität ebenso steigern (GASCON & VERD, 1985; HEIN, 2002; NEUMANN, 2014).

1.3 Alkalische Phosphatase

Im Folgenden wird auf die Gewebeverteilung und Leberspezifität, den Referenzbereich und die Ursachen des Anstiegs der Serumaktivität der Alkalischen Phosphatase (AP) eingegangen.

1.3.1 Gewebeverteilung und Leberspezifität

Die zellmembrangebundene AP hat beim Kaninchen eine Halbwertszeit von 69 Minuten (BOGIN et al., 1977). Die AP wird in IU/l (SI-Einheit) und in nkat/l (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005). Die AP ist ein Enzym, das Monophosphatasen hydrolysieren kann (WALTER et al., 1989). Sie kommt bei Kaninchen in zwei Isoenzymen vor, die auf unterschiedlichen Genen codiert sind (ALLISON, 2012).

Die AP kommt in fast allen Geweben vor und ist somit nicht organspezifisch (WALTER et al., 1989; KRAFT et al., 2005). Beim Hund und bei der Katze dient sie durch ihr Vorkommen vor allem in kanikulären Membranen der Hepatozyten als Marker für obstruktive Cholestasen (KRAFT et al., 2005) und für Schädigungen von Leberzellen und Gallengängen (KRAFT et al., 2005). Die AP des Kaninchens ist leberunspezifisch und kommt neben der Leber (0,97 IU/l) hauptsächlich in Dünndarm (8,25 IU/l), Knochen (1,61 IU/l), renalen Tubuli (2,82

IU/l) und in der Milz (1,51 IU/l) vor (KAY, 1928; CLAMPITT & HART, 1978; HOFMANN et al., 1989).

1.3.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die Serumaktivität der AP beim Kaninchen wird mit 0–397 IU/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Jungtiere besitzen aufgrund der Aktivität der AP-haltigen Osteoblasten eine deutlich höhere AP-Enzymaktivität als ältere Tiere (FISCHER, 1977; KRAFT et al., 2005; NEUMANN, 2014). Eine starke Altersabhängigkeit mit erhöhten Aktivitäten bis zum Ende der Wachstumsphase (FISCHER, 1977; FOX, 1989; RAGNITZ, 1993; HEIN & HARTMANN, 2003) sowie der Einfluss der Rasse (KOZMA et al., 1974; FISCHER, 1977) sind beschrieben. Ein Einfluss des Geschlechts wird kontrovers diskutiert (FOX & LAIRD, 1970; RAGNITZ, 1993).

1.3.3 Anstieg der Enzymaktivität im Serum

In manchen Literaturquellen wird der AP eine mögliche Bedeutung als Indikatorenzym für hepatobiliäre Obstruktionen und Gallenstau (BOYD, 1983; JENKINS, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005) zugesprochen, weniger für Leberzelluntergang (EWRINGMANN & GÖBEL, 2005). Nach operativer Ligatur des Hauptgallenganges blieben in einer experimentellen Studie von HADJIS und Mitarbeitern (1990) die maximal gemessenen AP-Aktivitäten allerdings im Referenzbereich, in einer Studie von ADJAROV und Mitarbeitern (1976) hingegen kam es nach einer solchen Ligatur zu einer deutlichen AP-Aktivitätserhöhung. Nach experimenteller Infektion beim Kaninchen mit *E. stiedae* zeigte die AP mehrfach keine signifikanten Aktivitätserhöhungen (HEIN, 1977; HEIN & LÄMMLER, 1978; MATHES & RAGNITZ, 1988; ABDEL-GHAFFAR et al., 1989). Ferner kann eine AP-Aktivitätserhöhung bei anderen Tierarten durch Glukokortikoide und Phenobarbital medikamentös induziert werden (WILLARD & TWEDT, 2006).

Korrelationsanalysen zwischen der AP und den übrigen Leberparametern wurden in einer Studie von RAGNITZ (1993) an einer Gruppe von 14 gesunden Kaninchen durchgeführt. Hier korrelierte die AP-Aktivität mit der γ -GT und der ALT signifikant (RAGNITZ, 1993).

1.4 Glutamatdehydrogenase

Im Folgenden wird auf die Gewebeverteilung und Leberspezifität, den Referenzbereich und die Ursachen des Anstiegs der Serumaktivität der Glutamatdehydrogenase (GLDH) eingegangen.

1.4.1 Gewebeverteilung und Leberspezifität

Die GLDH gilt als leberspezifisches Enzym (KELLER, 1979; RAGNITZ, 1993). Die Halbwertszeit der GLDH beträgt beim Kaninchen 2,4 Stunden (AMELUNG et al., 1960). Die GLDH wird in IU/l (SI-Einheit) und in nkat/l (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005). Sie ist am Aminosäurenstoffwechsel beteiligt, liefert Glutamat und durch eine Desaminierungsreaktion Vorstufen zur mitochondrialen Synthese von Adenosin-5'-triphosphat (ATP) (Böhm, 2014).

Die GLDH ist monolokulär mitochondrial vorhanden, das heißt, das Enzym ist an die Mitochondrienmatrix der Hepatozyten gebunden. Die höchste GLDH-Enzymaktivität ist in den Hepatozyten im zentrilobulären Bereich zu finden (MOSS et al., 1986; MC LAUGHLIN & FISH, 1997). Die GLDH gilt beim Kaninchen als leberspezifisches Enzym (CLAMPITT & HART, 1978; KELLER, 1979; BOYD, 1983). CLAMPITT und HART (1978) ermittelten maximale Gewebeaktivitäten von 88 IU/l in der Leber. Geringere Aktivitäten konnten in den Nieren (22 IU/l) und im Gehirn (18 IU/l) und darüber hinaus ebenfalls im Darm (17 IU/l) und in der Lunge (2 IU/l) ermittelt werden. CLAMPITT und HART (1978) sowie BOYD (1983) und ebenso MC LAUGHLIN und FISH (1997) vermuteten, dass die GLDH eine Indikatorfunktion für die Schädigung von Leberzellen hat. Auch HEIN und HARTMANN (2003) betrachteten die GLDH als empfindliches Leberenzym. Sie wird als hilfreicher Parameter zur Diagnostik hepatozellulärer Schäden diskutiert (CAMPBELL, 2012).

1.4.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die GLDH-Aktivität wird mit 0–19 IU/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Eine Geschlechtsabhängigkeit besteht nicht (RAGNITZ, 1993). HEIN und HARTMANN (2003) ermittelten jedoch eine Altersabhängigkeit mit höheren Aktivitäten bei jungen Tieren. Angaben zu weiteren Einflussfaktoren und Abhängigkeiten sind nicht beschrieben.

1.4.3 Anstieg der Enzymaktivität im Serum

Die GLDH reagiert sehr empfindlich bei sekundären Hepatopathien, wie bei Kardiomyopathien oder Gallestau, aber auch bei Hypoxien (KRAFT et al., 2005). Ihre Bedeutung für die Diagnostik von Lebererkrankungen wird aber trotz Leberspezifität zumindest bei Hund und Katze infrage gestellt (KRAFT et al., 2005).

Untersuchungen beim Kaninchen zur Gallengangskokzidiose zeigten signifikante GLDH-Aktivitätsanstiege im Verlauf experimenteller Infektionen (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993; MATHES & RAGNITZ, 1999). JOYNER und Mitarbeiter (1983) stellten einen signifikant früheren Anstieg der GLDH-Aktivität gegenüber der γ -GT-Aktivität nach experimenteller Infektion mit *E. stiedae* fest.

1.5 γ -Glutamyltransferase

Im Folgenden wird auf die Gewebeverteilung und Leberspezifität, den Referenzbereich und die Ursachen des Anstiegs der Serumaktivität der γ -GT eingegangen.

1.5.1 Gewebeverteilung

Die γ -GT ist ein zellmembrangebundenes Enzym (KRAFT et al., 2005). Sie ist vor allem in den Gallengängen lokalisiert, weshalb sie als leberspezifisch gilt (KRAFT et al., 2005). Die γ -GT wird in IU/l (SI-Einheit) und in nkat/l (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005). Sie ist am Aminosäurestoffwechsel beteiligt (Böhm, 2014) und überträgt γ -Glutamyl-Reste auf Glycylglycin (KRAFT et al., 2005).

KELLER (1979) ermittelte die höchste γ -GT-Aktivität in den Nieren (20 IU/l) und weitere γ -GT-Aktivitäten im Skelettmuskel (0,8 IU/l), in der Leber (0,4 IU/l) sowie im Herzmuskel (0,3 IU/l) und im Gehirn (0,2 IU/l). FISCHER (1977) wies auch eine γ -GT-Aktivität in der Milchdrüse und im Pankreas nach.

1.5.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die γ -GT-Aktivität wird mit 0–13 IU/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Die Aktivität wird laut RAGNITZ (1993) nicht durch das Geschlecht beeinflusst. Für die γ -GT besteht eine signifikante

Altersabhängigkeit mit höheren Werten für Jungtiere (HEIN & HARTMANN, 2003). Die Abstammung kann die γ -GT-Aktivität beeinflussen (FISCHER, 1977).

1.5.3 Anstieg der Enzymaktivität im Serum

Der γ -GT wird eine Leberspezifität (SAUNDERS & DAVIES, 2005) und eine Indikatorfunktion für posthepatische Obstruktionen zugesprochen (CLAMPITT & HART, 1978; MC LAUGHLIN & FISH, 1997; MEREDITH & RAYMONT, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005; CAMPBELL, 2012). Sie gilt als reaktionsträge (SAUNDERS & DAVIES, 2005; HEIN, 2009). Ihre Aussagekraft als Indikator für hepatozelluläre Schädigung beim Kaninchen wird in der Literatur bestritten (CLAMPITT & HART, 1978; MC LAUGHLIN & FISH, 1997; MEREDITH & RAYMONT, 2000).

Es wurden in der Literatur signifikante Aktivitätssteigerungen nach experimentell ausgelöster extrahepatischer Cholestase und gleichzeitiger Ureterligierung (ADJAROV et al., 1976) sowie nach experimenteller Infektion mit *E. stiedae* (HEIN, 1977; HEIN & LÄMMLER, 1978; MATHES & RAGNITZ, 1999; RAGNITZ, 1993) beschrieben. Im Gegensatz dazu wurden in zwei Fallberichten von Kaninchen mit Leberlappentorsion nur geringe γ -GT-Aktivitätserhöhungen gemessen (WENGER 2009), ebenso wie bei Untersuchungen im Rahmen von Gallengangskokzidiosen, in denen die γ -GT nur mäßige oder keine Aktivitätserhöhungen zeigte (JOYNER, 1983; GOMEZ–BAUTISTA et al., 1987).

Gemeinsame, signifikante Aktivitätserhöhungen der γ -GT, der ALT und der AST (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993; MATHES & RAGNITZ, 1999) in Kombination mit einer Erhöhung der Bilirubinkonzentration (ADJAROV et al., 1976) wurden ebenfalls beschrieben. Angaben zu Korrelationsberechnungen finden sich in der Literatur jedoch keine.

2 Leberspezifische Substrate

Substrate sind in der Enzymologie Ausgangsstoffe, die mit Enzymen eine Bindung eingehen und zu einem Reaktionsprodukt umgewandelt werden (KRIEGEL & SCHELLENBERGER, 2014). In der Leber als zentralem Stoffwechselorgan finden der Kohlenhydratstoffwechsel, der Lipidstoffwechsel, die Proteinbiosynthese, der Aminosäurestoffwechsel sowie die Speicherung von

Vitaminen und Spurenelementen statt (KRIEGEL & SCHELLENBERGER, 2014). Wegen ihrer zentralen Bedeutung für die Glukosehomöostase, die Harnstoffbiosynthese, die Albuminsynthese und den Bilirubinstoffwechsel sind die entsprechenden Substrate in der Labordiagnostik bei Abklärungen von Hepatopathien von Interesse (CAMPBELL, 2014). Wichtige Daten zu den leberspezifischen Substraten Albumin, Bilirubin, Gesamteiweiß, Harnstoff und Glukose sind im Folgenden zusammengefasst.

2.1 Gesamteiweiß

Die Gesamteiweißkonzentration wird in der Einheit g/l (SI-Einheit) und g/dl (konventionelle Einheit) (KRAFT et al., 2005) angegeben. Die Proteine im Blut besitzen Transportfunktion, Funktionen in der Blutgerinnung und Fibrinolyse, sind Teil der Immunabwehr und halten das Plasmavolumen konstant (FISCHER, 1977; HEINRICH et al., 2014).

2.1.1 Entstehung und Abbau

In der Leber findet die Biosynthese der meisten Proteine statt (HÄUSSINGER & LÖFFLER, 2014). Neben Albumin werden unter anderem auch Enzyme, α - und β -Globuline und Gerinnungsfaktoren (ausgenommen Faktor VIII und Faktor IV) in der Leber synthetisiert (KRAFT et al., 2005). Die γ -Globuline sind Immunglobuline. Wenn die Syntheseleistung der Leber durch eine schwere Hepatopathie eingeschränkt ist, ist die Proteinproduktion vermindert. Damit verschiebt sich das Proteinverhältnis zugunsten der Fraktion, die nicht in der Leber gebildet wird (KRAFT et al., 2005).

2.1.2 Referenzbereich

Die Gesamteiweißkonzentration wird in der Einheit g/l (SI-Einheit) und g/dl (konventionelle Einheit) (KRAFT et al., 2005) angegeben. Der Referenzbereich bei Kaninchen liegt bei 48,9–73,9 g/l (HEIN & HARTMANN, 2003). Die Konzentration variiert leicht, unter anderem in Abhängigkeit von Rasse, Geschlecht und Belastung (KOZMA et al., 1974; MC LAUGHLIN & FISH, 1997; CAMPBELL, 2012). Eine Geschlechtsabhängigkeit mit höheren Werten bei männlichen Kaninchen (FOX & LAIRD, 1970) sowie eine Altersabhängigkeit mit niedrigeren Konzentrationen bei Jungtieren (FISCHER, 1977) sind beschrieben. HEIN und HARTMANN (2003) konnten beides nicht bestätigen. Die

Albuminfraktion kann beim Kaninchen 40–60 % und teilweise bis 86 % der Gesamteiweißkonzentration ausmachen (HEIN & HARTMANN, 2003; CAMPBELL, 2012).

2.1.3 Veränderung der Gesamteiweißkonzentration im Serum

Beim Kaninchen sind eine Hyper- und eine Hypoproteinämie beschrieben.

2.1.3.1 Hyperproteinämie

Hyperproteinämien sind beim Kaninchen häufig in Zusammenhang mit Dehydratation zu sehen (CAMPBELL, 2012). Laut HARCOURT-BROWN (2002) können unter anderem auch chronische und immunmedierte Erkrankungen eine Konzentrationserhöhung der Gesamteiweißkonzentration durch Erhöhung der Serumglobuline mit sich bringen.

2.1.3.2 Hypoproteinämie

Eine Hypoproteinämie kann bei Verlust von Protein über die Nieren, den Darm oder im Zuge einer Blutung oder Vaskulitis und bei reduzierter Proteinsynthese in der Leber sowie bei zu geringer Proteinaufnahme über die Nahrung auftreten (HARTMANN et al., 2011). Beim Kaninchen kann die Gesamteiweißkonzentration bei chronischen und schweren Hepatopathien, aber auch bei chronischen Enteropathien, Glomerulonephropathien und Unterernährung vermindert sein (MC LAUGHLIN & FISH, 1997; HARCOURT & BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005). Laut CAMPBELL (2012) sind beim Kaninchen schwere Nieren- und Lebererkrankungen als wichtigste Ursache von Hypoproteinämien und Hypalbuminämien anzusehen.

2.2 Albumin

Albumin ist ein kohlenhydratfreies Protein und stellt den größten Anteil innerhalb der Plasmaproteine (LÖFFLER & PETRIDES, 1998). Die Konzentration des Albumins wird in g/l (SI-Einheit) oder in g/dl (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005).

2.2.1 Entstehung und Abbau

Albumin ist unter anderem verantwortlich für die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes im Organismus (KRAFT et al., 2005). Die Synthese

findet zusammen mit α - und β -Globulinen sowie Enzymen und Gerinnungsfaktoren (ausgenommen des Faktors VIII und des Faktors IV) in der Leber statt. Dabei hängt die Serumkonzentration des Albumins vom Gleichgewicht zwischen Synthese, Abbau und Verlust ab (KRAFT et al., 2005).

2.2.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für Albumin wird beim Kaninchen mit 35,6–56,8 g/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Ein signifikanter Geschlechtseinfluss besteht nicht (FOX, 1970; HEBOLD & BLEUEL, 1973; HEIN & HARTMANN, 2003).

2.2.3 Veränderung der Albuminkonzentration im Serum

Beim Kaninchen sind Hyper- und Hypalbuminämien beschrieben.

2.2.3.1 Hyperalbuminämie

Eine Dehydratation kann beim Kaninchen, ähnlich wie bei anderen Tierarten, zu einer Hyperalbuminämie führen (HARCOURT-BROWN & BAKER, 2011).

2.2.3.2 Hypalbuminämie

Die Hypalbuminämie kann Folge verminderter Bildung oder erhöhten Verlustes sein (KRAFT et al., 2005). Die Ursachen für eine Hypalbuminämie können entsprechend neben Hepatopathien (reduzierte Bildung), auch renal (Proteinurie) oder intestinal (Durchfall mit Proteinverlust) bedingt oder Folge einer Vaskulitis (Sepsis) sein (HARTMANN et al., 2011). Beim Kaninchen wurde eine Hypalbuminämie in Zusammenhang mit schwerer oder fortgeschrittener Hepatopathie vielfach beschrieben (MEREDITH & RAYMONT, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005; CAMPBELL, 2012). HARCOURT-BROWN (2002) beschrieb einen schweren Befall mit *Taenia pisiformis* (Taeniose) oder *E. stiedae* (Leberkokzidiose) als mögliche Ursache für eine Hypalbuminämie. Bei der Migration von *Taenia pisiformis* im Larvalstadium durch die Leber und durch die Leberkokzidiose kann es nach fibrotischen und nekrotischen Prozessen zu erniedrigten Albuminkonzentrationen kommen (HARCOURT-BROWN, 2002). Auch CAM und Mitarbeiter (2008) und AL QUARAI SHY und Mitarbeiter (2011) konnten einen Abfall der Albuminkonzentration bei Leberkokzidiose nachweisen. Ebenso gehen eine

Glomerulopathie, eine Enteropathie mit Proteinverlust, eine Malabsorption und ein kardiogener Aszites mit einem Verlust an Albumin bei Kaninchen einher (CAM et al., 2008; AL QUARAISHY et al., 2011). Dass der Ernährungszustand, eine falsche Fütterung und auch Unterernährung infolge von Zahnproblemen beim Kaninchen in dem Zusammenhang ebenso eine Rolle spielen, beschrieb HARCOURT-BROWN (2002). Außerdem führte HARCOURT-BROWN (2002) aus, dass die Aufnahme von Caecotrophe für den Proteinstoffwechsel und die Aminosäurezufuhr unerlässlich sei und dass eine verminderte Aufnahme, bedingt durch Übergewicht, Skeletterkrankung und nicht artgerechte Fütterung, die Albuminkonzentration negativ beeinflussen könnte.

2.3 Bilirubin

Bilirubin gehört zu den Farbstoffen (KRAFT et al., 2005). Die Bilirubinkonzentration wird in $\mu\text{mol/l}$ (SI-Einheit) und in mg/dl (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005).

2.3.1 Entstehung und Abbau

Beim Kaninchen ist das Hauptprodukt aus dem Hämoglobinabbau das Biliverdin, weniger das Bilirubin. Aus diesem Grund ist die Bilirubinkonzentration im Serum von Kaninchen im Vergleich zu der der Fleischfresser nur gering (MUNOZ et al., 1986; JENKINS, 2000). Der Gallenfarbstoff Bilirubin entsteht hauptsächlich beim Abbau von Hämoglobin, zu einem geringen Teil auch von Myoglobin, Zytochromen und Katalasen (KRAFT et al., 2005).

Die Bildung von primärem Bilirubin I findet im retikuloendothelialen System statt. Bilirubin I wird an Albumin gebunden über den Blutstrom zu den Hepatozyten transportiert (KRAFT et al., 2005). Nach Abspaltung des Albumins wird es dann in die Hepatozyten aufgenommen und zu Bilirubin II umgewandelt. Bei intakten Mikrovilli der Hepatozyten wird das Bilirubin II anschließend mit der Galle über den Dünndarm ausgeschieden (KRAFT et al., 2005).

2.3.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für Bilirubin bei Kaninchen wird mit $0,29\text{--}2,53 \mu\text{mol/l}$ angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Es besteht weder ein signifikanter Alterseinfluss (FISCHER, 1977; HEIN & HARTMANN, 2003) noch ein

signifikanter Geschlechtsunterschied (HEBEL & BLEUEL, 1973; FOX et al., 1974; HEIN & HARTMANN, 2003).

2.3.3 Veränderung der Bilirubinkonzentration im Serum

Beim Kaninchen ist eine Hyperbilirubinämie beschrieben (ADJAROV et al., 1976; HEIN, 1977; HEIN & LÄMMLER, 1978; MASTAI et al., 1996; BRANDAO et al., 2000; FEREIRRA et al., 2006), eine Hypobilirubinämie wird in der Literatur nicht erwähnt.

2.3.3.1 Hyperbilirubinämie

Eine Störung des Bilirubinstoffwechsels kann sich durch erhöhte Bilirubinkonzentrationen im Blut in Form von prähepatischem, intrahepatischem und posthepatischem Ikterus äußern (HARTMANN et al., 2011). Das Bilirubin gilt beim Kaninchen als Parameter, der die Funktion des Gallengangsystems und der Leber anzeigen kann (JENKINS, 2000; MEREDITH & RAYMONT, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002).

In der Literatur sind Bilirubinkonzentrationserhöhungen nach experimenteller Obstruktion des Hauptgallenganges bis zum 32-fachen des oberen Referenzwertes zu finden (ADJAROV et al., 1976). Hämolysebedingte, prähepatische Hyperbilirubinämien sind bei Kaninchen mit RHD (FEREIRRA et al., 2006), hepatische Hyperbilirubinämien bei Kaninchen mit induzierter Leberfibrose (MASTAI et al., 1996) und Leberzirrhose (BRANDAO et al., 2000) und posthepatische Hyperbilirubinämien bei Kaninchen mit induzierter Gallengangskokzidiose (ADJAROV et al., 1976; HEIN, 1977; HEIN & LÄMMLER, 1978) und Gallengangsneoplasien (MEREDITH & RAYMONT, 2000; JENKINS, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002) beschrieben.

2.3.3.2 Hypobilirubinämie

Ein Abfall der Bilirubinkonzentration unter den Referenzbereich wird in der Literatur als Artefakt beschrieben und tritt auf, wenn die Blutprobe zu lange fluoreszierendem Licht oder Sonnenstrahlung ausgesetzt war (GOUGH, 2007).

2.4 Harnstoff

Die Konzentration des Harnstoffs wird in mmol/l (SI-Einheit) oder in mg/dl (konventionelle Einheit) angegeben (KRAFT et al., 2005).

2.4.1 Entstehung und Abbau

Der Harnstoff ist ein Stoffwechselendprodukt der Proteinverdauung (KRAFT et al., 2005). Die Harnstoffbildung findet in den Hepatozyten im Harnstoffzyklus (KRAFT et al., 2005), auch Krebs-Henseleit-Zyklus genannt, statt und dient zur Umwandlung von Ammonium in Harnstoff (KRAFT et al., 2005). In den periportalen Hepatozyten werden im Harnstoffzyklus Ammoniumionen gebildet und fixiert und damit der Stickstoff aus dem Blutkreislauf transportiert (RÖHM, 2014). Der gebildete Harnstoff kann über die Niere ausgeschieden werden (KRAFT et al., 2005). Die Harnstoffsynthese dient außerdem der Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Haushalts (FISCHER, 1977; HEINRICH, 2014).

2.4.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die Harnstoffkonzentration im Serum wird bei Kaninchen mit 2,05–8,42 mmol/l angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Ein Alterseinfluss besteht nicht (FISCHER, 1977; HEIN & HARTMANN, 2003). Der Einfluss des Geschlechts wird kontrovers diskutiert. Während FOX und LAIRD (1970), FOX und Mitarbeiter (1970) sowie KOZMA und Mitarbeiter (1974) höhere Harnstoff-Serumkonzentrationen bei weiblichen Tieren belegten, gibt es laut HEBELD und BLEUEL (1973) sowie HEIN und HARTMANN (2003) keinen signifikanten Einfluss durch das Geschlecht.

2.4.3 Veränderung der Harnstoffkonzentration im Serum

Beim Kaninchen ist sowohl ein Anstieg als auch ein Abfall der Harnstoffkonzentration im Serum beschrieben.

2.4.3.1 Anstieg der Harnstoffkonzentration

Eine erhöhte Harnstoffkonzentration kann grundsätzlich verschiedenen Ursprungs sein: prärenal (bei Dehydratation oder Magen-Darm-Blutung), renal (bei Nierenkrankheit) oder postrenal (bei Obstruktion oder Trauma der ableitenden Harnwege) (HARTMANN et al., 2011). Eine isolierte Erhöhung der Harnstoffkonzentration ohne Erhöhung der Kreatininkonzentration kann durch vermehrte Proteinaufnahme aus dem Magen-Darm-Trakt nach Blutung oder Nahrungsaufnahme verursacht werden (HARTMANN et al., 2011).

Beim Kaninchen sind erhöhte Harnstoffkonzentrationen infolge Dehydratation (Wasserentzug, Durchfall nach Infektion mit Kokzidien) (LICOIS et al., 1978; HARCOURT-BROWN, 2002), Magen-Darm-Blutung (SAUNDERS & DAVIES, 2005), Nephropathie (Nephrolithiasis, Nierenerkrankung nach Infektion mit *Encephalitozoon cuniculi*), verringerter Nierendurchblutung (bedingt durch Schock, Stress, Herzerkrankung) und Obstruktion oder Trauma der ableitenden Harnwege (SAUNDERS & DAVIES, 2005) beschrieben. In einer Studie von SAITO und HASEGAWA (2003) waren unter den Kaninchen mit erhöhten Serumharnstoffkonzentrationen Tiere mit gastrointestinalen Krankheiten, Leberkrankheiten und Zahnproblemen besonders häufig.

2.4.3.2 Abfall der Harnstoffkonzentration

Eine verminderte Harnstoffkonzentration im Serum kann bei allen Tierarten Folge einer Hepatopathie sein (KRAFT et al., 2005). Sie kann auch bei verminderter Proteinaufnahme mit der Nahrung, vermehrter Ausscheidung über die Nieren oder verminderter Synthese bei Leberfunktionsstörungen auftreten (HARTMANN et al., 2011). Bei Kaninchen kann neben schweren Leberfunktionsstörungen auch eine verringerte Proteinaufnahme ursächlich für eine Erniedrigung der Harnstoffkonzentration sein (MC LAUGHLIN & FISH, 1997; BENSON & PAUL-MURPHY, 1999; HARCOURT-BROWN, 2002).

2.5 Glukose

Die Glukose ist als Monosaccharid Ausgangsstoff und Bestandteil für zahlreiche Stoffwechselvorgänge (Glykolyse, Glykogensynthese, Glykogenolyse, Glukoneogenese, Fruktosestoffwechsel, Pentosephosphatweg) und wird als Schlüsselmolekül des Kohlenhydratstoffwechsels bezeichnet (LÖFFLER & MÜLLER, 2014). Die Glukose dient der Sicherstellung der Glykogenvorräte der Leber, der Biosynthese von Monosacchariden, Heteroglykanen, Lipiden und Aminosäuren sowie der Energiegewinnung (LÖFFLER & MÜLLER, 2014). Als Einheiten werden mmol/l (SI-Einheit) und mg/dl (konventionelle Einheit) verwendet (Kraft et al., 2005).

2.5.1 Entstehung und Abbau

Glukose wird in der Leber, dem wichtigsten Glykogenspeicherorgan des Organismus, durch Glykogenolyse oder durch Glukoneogenese aus

Nichtkohlenhydraten gebildet (KRAFT et al., 2005). Die Leber ist damit für die Aufrechterhaltung der Glukosekonzentration im Blut mitverantwortlich (HÄUSSINGER & LÖFFLER, 2014).

2.5.2 Referenzbereich

Der Referenzbereich für die Glukosekonzentration im Serum wird bei Kaninchen mit 105–267 mg/dl angegeben (HEIN & HARTMANN, 2003). Ein Geschlechtseinfluss mit signifikant höheren Werten bei weiblichen Kaninchen wird von HEBOLD und BLEUEL (1973) beschrieben, von FOX und LAIRD (1970) sowie HEIN und HARTMANN (2003) hingegen bestritten. Ein Alterseinfluss mit höheren Werten bei älteren Kaninchen wird von NASLEDOWA und SILNISKY (1972) erwähnt, von anderen Autoren (FISCHER, 1977; FOX & LAIRD, 1970; HEIN & HARTMANN, 2003) jedoch nicht bestätigt. Laut CAMPBELL (2012) schwankt der Plasmaglukosespiegel beim Kaninchen prä- und postprandial, wobei gesunde Kaninchen während kurzfristigen Nahrungsentzugs (< 16 Stunden) ihren Blutglukosespiegel aufrechterhalten können.

2.5.3 Veränderung der Glukosekonzentration im Serum

Beim Kaninchen sind Hypo- und Hyperglykämie beschrieben.

2.5.3.1 Hyperglykämie

Eine Hyperglykämie kann auftreten, wenn ein Organismus Stress ausgesetzt ist, bei gesteigerter Glukoneogenese (z. B. durch Einfluss von Glukokortikoiden) und bei Insulinresistenz oder -mangel (HARTMANN et al., 2011). Die hohen Glukosekonzentrationen beim gesunden Kaninchen, die bei anderen Tierarten bereits für eine Erkrankung sprechen würden (HEIN & HARTMANN, 2003), haben ihren Ursprung in der Physiologie des Kaninchens. Die Fähigkeit schnell Glukose zu bilden, die nahezu permanente Futteraufnahme und die zusätzliche Aufnahme von Caecotrophe (Blinddarmkot) bei Kaninchen sichern eine konstante Energiequelle (HARCOURT & BROWN, 2002). Entsprechend können gesunde Kaninchen auch bei kurzzeitigem Nahrungsentzug (< 16 Stunden) ihre Blutglukosekonzentration konstant halten (CAMPBELL, 2012), nach einer Studie von KOZMA und Mitarbeitern (1974) sogar während eines 96-stündigen Futterentzugs. Hyperglykämie ist beim Kaninchen ein relativ häufiger Befund

(HARCOURT-BROWN, 2002). Über deren klinische Bedeutung gibt es allerdings unterschiedliche Meinungen (JENKINS, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005). CAMPBELL (2012) beobachtete Hyperglykämien bei Kaninchen in Zusammenhang mit Stress, Diabetes mellitus und in Kombination mit erhöhten Harnstoffkonzentrationen bei gesteigertem Proteinstoffwechsel bei Hyperthermie. Besonders starke Hyperglykämien ($> 25 \text{ mmol/l}$) wurden in neuerer Zeit häufig bei Kaninchen mit Dünndarmverschlüssen diagnostiziert, so dass die Höhe der Glukosekonzentration im Serum sogar zur Unterscheidung von Ileus und Magendilatation herangezogen wird (HARCOURT-BROWN & HARCOURT-BROWN, 2012; BÖTTCHER & MÜLLER, 2016).

2.5.3.2 Hypoglykämie

Eine Hypoglykämie kann bei Insulinüberschuss (Insulinom), erhöhtem Glukoseverbrauch (Krämpfe, Sepsis, extreme Belastung), reduzierter Produktion (Leberfunktionsstörung, Hypoadrenokortizismus) und bei reduzierter Aufnahme über die Nahrung auftreten (HARTMANN et al., 2011). Beim Kaninchen kann eine Hypoglykämie ein Zeichen einer gestörten Leberfunktion sein, aber auch Folge einer langfristig unzureichenden Futteraufnahme (Anorexie, mukoide Enteropathie) oder als Folge erhöhten Glukoseverbrauchs (Sepsis, extreme Belastung) auftreten (VETESI & KUTAS, 1974; HARCOURT-BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005; CAMPBELL, 2012). Andere Ursachen für eine Hypoglykämie, wie das Insulinom des Pankreas oder der Morbus Addison (HARTMANN et al., 2011), sind in der Literatur beim Kaninchen nicht beschrieben. Nach HARCOURT-BROWN (2002) könnten diese Erkrankungen theoretisch aber auch bei Kaninchen auftreten.

III PUBLIKATION

SENSITIVITY OF LIVER PARAMETERS IN DIAGNOSING LIVER DISEASES IN RABBITS

SENSITIVITÄT VON LEBERPARAMETERN IN DER DIAGNOSTIK VON HEPATOPATHIEN BEI KANINCHEN

Veröffentlicht in der „Berliner Münchener Tierärztlichen Wochenschrift“

Leban-Danzl A, Hartmann K, Majzoub-Altweck M, Hermanns W, Sauter-Louis C, Hein J. Sensitivity of liver parameters in diagnosing liver diseases in rabbits. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 2016; 129 (11/12): 518-26. DOI 10.2376/0005-9366-15108.

Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany¹
Institute for Veterinary Pathology, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany²
Clinic for Ruminants, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich, Oberschleißheim, Germany³

Sensitivity of liver parameters in diagnosing liver diseases in rabbits

Sensitivität von Leberparametern in der Diagnostik von Hepatopathien bei Kaninchen

Anka Leban-Danzl¹, Katrin Hartmann¹, Monir Majzoub-Altweck²,
Walter Hermanns², Carola Sauter-Louis³, Jutta Hein¹

Summary

This retrospective study evaluated the sensitivity and clinical importance of liver parameters (alanine aminotransferase [ALT], alkaline phosphatase [AP], aspartate aminotransferase [AST], glutamate dehydrogenase [GLDH], γ-glutamyltransferase [GGT], glucose, albumin, total protein, bilirubin, and urea) for diagnosing hepatopathies (hepatic lipidosis, inflammation, diseases of the bile duct, neoplasia, cirrhosis, fibrosis, other liver diseases) in rabbits. The laboratory results of 77 rabbits with hepatopathies diagnosed

via cytological or histopathological examination were investigated by assessing frequency distributions, associations between liver parameters and different hepatopathies, and intercorrelations between parameters. The most frequent liver disease was hepatic lipidosis (40/77), followed by inflammation (35/77). Aspartate aminotransferase was the parameter most commonly increased ($n = 20/77$, 70.0% above the reference interval), whereas AP activity never exceeded the reference interval. Significant ($p < 0.05$) associations and high diagnostic sensitivities were found for increased bilirubin concentration in rabbits with neoplasia and reduced urea concentration in rabbits with fibrosis. Significant and high correlations ($p \leq 0.001$; $r > 0.9$) were found between AST/ALT, GGT/ALT, GGT/AST, and bilirubin/GGT, and significant but lower correlations ($p \leq 0.001$, $r = 0.5-0.9$) were detected for GLDH/ALT, and GLDH/AST. The study showed that AST, GLDH, ALT, and GGT, in contrast to AP, represent suitable parameters for detecting hepatopathies in rabbits.

Keywords: liver enzymes, liver substrates, lagomorpha, correlation, significance

Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war die retrospektive Untersuchung von Sensitivität und klinischer Bedeutung von Leberparametern (Alaninaminotransferase [ALT], Alkalische Phosphatase [AP], Aspartataminotransferase [AST], Glutamatdehydrogenase [GLDH], γ -Glutamyltransferase [GGT], Glukose, Albumin, Gesamteiweiß, Bilirubin und Harnstoff) in der Diagnostik von Hepatopathien (Hepatolipidose, Entzündung, Krankheiten des galleabführenden Systems, Neoplasie, Zirrhose, Fibrose, sonstige Leberkrankheiten) beim Kaninchen. Untersucht wurden die Laborbefunde von 77 Kaninchen mit zytologisch oder histopathologisch diagnostizierten Hepatopathien in Hinblick auf Häufigkeitsverteilungen, Abhängigkeiten der Leberparameter von den Diagnosen und die Korrelation der Parameter untereinander. Die häufigste Hepatopathie war die Hepatolipidose (40/77) gefolgt von Entzündungen (35/77). Die häufigste Aktivitätssteigerung zeigte im Fall einer Messung (20/77) die AST (70,0 % über dem Referenzbereich), während eine AP-Aktivität oberhalb des Referenzbereiches in keinem Fall verzeichnet wurde. Signifikante ($p < 0,05$) Abhängigkeiten mit hohen Sensitivitäten ergaben sich für erhöhte Bilirubinkonzentrationen bei Kaninchen mit Neoplasie, und erniedrigte Harnstoffkonzentrationen bei Kaninchen mit Fibrose. Signifikante und hohe Korrelationen ($p \leq 0,001$; $r > 0,9$) ergaben sich für die Paarungen AST/ALT, GGT/ALT, GGT/AST und Bilirubin/GGT, signifikante, jedoch niedrigere Korrelationen ($p \leq 0,001$; $r = 0,5-0,9$) für die Paarungen GLDH/ALT und GLDH/AST.

Die Studie zeigte, dass AST, GLDH, ALT und GGT im Gegensatz zur AP beim Kaninchen geeignete Leberparameter darstellen, um Hepatopathien zu ermitteln.

Schlüsselwörter: Leberenzyme, Lebersubstrate, Lagomorpha, Korrelation, Signifikanz

Introduction

Reference intervals for liver parameters in rabbits (Quesenberry, 2000; Hein, 2002; Hein and Hartmann, 2003) as well as changes in enzyme activity in rabbits with specific liver diseases (Abdel-Ghaffar et al., 1990; Ferreira et al., 2006; Graham et al., 2014) have been reported. However, the conclusions drawn on the clinical importance of liver enzymes in rabbits are controversial. For example, some studies showed an increase in the activity of alkaline phosphatase (AP) after experimental infection with *Eimeria* (*E.*) *stiedae* or experimental ligation of the bile duct (Adjarov et al., 1976; Boyd, 1983; Mc Laughlin and Fish, 1997; Jenkins, 2000; Harcourt-Brown, 2002), whereas others found no significant increase after infection with *E. stiedae* (Hein and Lämmle, 1978; Matthes and Ragnitz, 1999) or experimental bile duct ligation (Hadjis et al., 1990). To the authors' knowledge, the importance of AP activity in natural infections in a population of pet rabbits has not been investigated.

Changes in liver parameters and their significance in rabbits have been described in experimental studies, clinical studies examining a single liver disease, or in case reports. Studies include rabbits with biliary and hepatic coccidiosis (Hein and Lämmle, 1978; Joyner et al., 1983; Gomez-Bautista et al., 1987; Abdel-Ghaffar et al., 1990; Cam et al., 2008; Al Quraishy et al., 2011), fibrosis/cirrhosis (Brandao et al., 2000), hepatobiliary obstruction (Hadjis et al., 1990), hepatic lobe torsion (Fitzgerald and Fitzgerald, 1992; Wenger et al., 2009; Stanke et al., 2011; Graham et al., 2014) and biliary neoplasia (de Cubellis et al., 2010).

To the authors' knowledge, there are no studies on the diagnostic value of liver parameters in a population of pet rabbits with various hepatopathies identified via cytological or

histological examination. The goal of this retrospective study was to examine the diagnostic sensitivity, intercorrelations and clinical importance of different parameters for diagnosing hepatopathies in rabbits.

Material and Methods

Data

This was a retrospective study that evaluated the medical records of 77 rabbits, which were patients at the Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich. The criteria for inclusion in the study were firstly, that each rabbit had to have a cytological or histopathological diagnosis of liver disease and secondly, that results of blood analysis were available. The results of all blood tests requested by the veterinarians treating the rabbits were included in the medical record search to ensure that the choice of tests was not biased. Blood samples were collected from 77 rabbits with liver disease that was diagnosed cytologically (4/77; hepatic lipidosis, $n = 2$; neoplasia, $n = 2$) or histologically (73/77) or using both methods (2/77). Each case was assigned to seven diagnostic groups that included hepatic lipidosis (lobular/panlobular fat infiltration, with small and big fat droplets; $n = 40$), inflammation (hepatitis: mostly inflammatory processes but also inflammatory infiltration and resorptive inflammation; $n = 35$), diseases of the bile duct (inflammatory, degenerative, neoplastic and parasitic diseases; $n = 13$), fibrosis ($n = 9$), neoplasia (neoplastic disease of the liver and biliary tract; $n = 5$), cirrhosis (all stages of the disease including pre-cirrhotic disease; $n = 4$) and other liver diseases (lymphoplasmacytic, round and mixed cell infiltration, focal necrosis, extreme vacuolization; $n = 18$) with or without abnormal liver parameters. 41 cases were assigned to one diagnostic group, 26 cases to 2 groups and 10 cases to three groups. There were 35 (45.5%) males and 39 females (50.6%), and in three rabbits, the gender was not recorded. The rabbits ranged in age from seven months to 11 years (median, 4 years).

Cytology

Liver samples were collected for cytological examination in four rabbits via fine-needle aspiration using a 22 gauge needle and a 10 ml syringe under sonographic guidance without sedation. The rabbits were placed in dorsal recumbency on a radiographic positioning aid, and the ventral abdomen was shaved, cleaned and disinfected. The aspirated material was placed on glass slides, stained using Wright's stain (Diff-Quik®, Medion Diagnostics, Düringen, Switzerland) and examined microscopically by Prof. Dr. Johannes Hirschberger (DipECVIM-CA [Internal Medicine, Oncology] and his team, Clinic of Small Animal Internal Medicine, LMU Munich, Germany).

Blood collection

In all rabbits, blood samples were collected from the lateral saphenous vein using a 20 gauge needle (Microlance™3® needles, Becton Dickinson, Fraga, Spain) without sedation. Blood dripping from the needle hub was collected into EDTA (Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Eisenroth, Germany) and serum tubes (Sarstedt, Nümbrecht, Germany). 30 minutes after collection, the clotted blood was centrifuged at 4000 revolutions per minute, the serum was transferred into a glass tube, and immediately sent to the laboratory. The serum was analysed within 24 hours at the laboratory of the Clinic of Small Animal Medicine, LMU Munich, Germany.

Necropsy and histopathology

Euthanized rabbits ($n = 73$) underwent macroscopic and microscopic examination of all organs, including the liver. Multiple 4- μ m liver sections were cut and stained (Hemalaun-

Eosin, Giemsa, PAS) and examined microscopically by Prof. Dr. Walter Hermanns, Institute for Veterinary Pathology, LMU Munich, Germany, and his team.

Laboratory methods

Biochemical parameters measured in serum included enzyme activities of alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), aspartate aminotransferase (AST), glutamate dehydrogenase (GLDH), and γ -glutamyl transferase (GGT) and concentrations of glucose, total protein, albumin, bilirubin, and urea. Which parameters were determined depended on the clinician who sampled the blood and of the amount of blood that was available. Biochemical assays were done within 24 hours of collection using the Autoanalyser Hitachi 911® (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) and reagents from Roche diagnostics (2000, 2001, 2002).

Statistical evaluation

The statistical package SPSS 20.0 for Windows (SPSS IBM, New York, USA) was used to examine frequency distributions of the different diagnoses and laboratory parameters and to calculate various statistical parameters. The Mann-Whitney U-test was used to analyse differences in laboratory parameters (medians) between rabbits of different group variables (sick/healthy). Receiver operating characteristic (ROC) curves were created for the laboratory parameters and sensitivities and confidence intervals were calculated. Pearson correlation coefficients were calculated for all possible pairs of enzymatic and biochemical liver parameters. Difference were considered significant at $p < 0.05$.

Results

The number of cases with enzyme activities and concentrations of substrates below, within and above the reference intervals for each group of rabbits with different hepatic disorders are shown in Tables 1A and 1B. In 33 of the 77 (42.9%) rabbits with liver disease, all examined liver parameters were within the reference intervals. Concentrations of biochemical parameters below the reference intervals were mostly recorded in rabbits with lipidosis and inflammation (Tab. 1B). The most frequent cause of hepatopathies was hepatic lipidosis (40/77, 51.9%) followed by inflammation (35/77, 45.5%). There were only a few rabbits with neoplasia (5/77, 6.4%) and liver cirrhosis (4/77, 5.2%).

Descriptive statistics for selected liver parameters of rabbits with liver disease are shown in Table 2. The activity of AST, which was measured in 20/77 rabbits, was the one enzyme with an activity most often outside the reference interval (14/20, 70%) and with the biggest fold increase (138-fold). The activity of AP was never outside the reference interval. Enzyme activities and concentrations of selected biochemical parameters are shown in Figures 1 and 2 using box-and-whisker plots. Sensitivities, confidence intervals and cut point values for all possible pairs of laboratory variables and hepatopathies are listed in Table 3 and Pearson correlation coefficients between selected liver enzymes and biochemical parameters are shown in Table 4.

Discussion

At least one liver parameter was outside the reference interval in 44 of 77 (57.1%) rabbits with liver disease, whereas all laboratory parameters were within the reference interval in the remaining rabbits (33 of 77; 42.9%). It is common knowledge that hepatopathies are not necessarily accompanied by changes in liver parameters (Rothuizen and Meyer, 2000). Furthermore, enzyme activity measurements are often affected by the short half-life of enzymes (Amelung et al., 1960; Bogin et al., 1977), particularly in field studies that are not conducted under standardised conditions.

The most common liver disease diagnosed in this study was hepatic lipidosis. Unfortunately, to the authors' knowledge, there are no other studies on the frequency distribution of different hepatopathies in rabbits for comparison. High lipase activity in rabbits is responsible for lipolysis and hepatic lipidosis in anorectic rabbits (Hein and Hartmann, 2003), and because obesity and anorexia are common in rabbits, hepatic lipidosis also is common. The second most common disease category was inflammation. Infection is frequently blamed for hepatitis in rabbits (Saunders and Davies, 2005), and glucocorticoid-induced changes also can cause inflammation of the liver (Metechkina and Mishunina, 1977; Tennant et al., 1981; Jenkins, 2000). In this study, many rabbits were infected with *Encephalitozoon (E.) cuniculi*, which was thought to adversely affect the liver, and it is also possible that some of the rabbits had a history of glucocorticoid treatment. The frequent occurrence of hepatitis documented in the present study is not surprising in view of the many potential causes of inflammation. The diagnostic group of bile duct diseases (13/77; 6.9%) included bile duct coccidiosis, bile duct proliferation, cholangitis and one rabbit with bile duct adenoma. There were only 2 rabbits with hepatic coccidiosis and therefore no such diagnostic category was created. Coccidiosis is probably underrepresented in this study because pet rabbits usually have a mild course of disease. Cases of coccidiosis diagnosed and treated in our clinic that were not accompanied by histopathological findings were excluded from this study. Rabbits with liver fibrosis had secondary signs of chronic necrosis, inflammation and destruction of liver lobules resulting in chronic intrahepatic circulatory disorders. The most common primary tumours affecting the liver in rabbits are bile duct adenoma, cystadenoma, bile duct carcinoma and cholangiocarcinoma. Liver metastases usually are secondary to uterine adenocarcinoma (Weisbroth, 1994; Meredith and Rayment, 2000). In the present study, neoplasia was diagnosed in 5 rabbits, 2 of which had adenocarcinoma. Cirrhosis of the liver is the end-stage of chronic tissue necrosis with subsequent scarring and was therefore only rarely diagnosed in the present study (4/77). There are several studies describing liver cirrhosis induced experimentally with carbon tetrachloride or endotoxins in rabbits (Shiga and Mori, 1985; Mastai and Laganiere, 1996; Wanless and Belgiorno, 1996; Brandao and Ferreira, 2000).

Compared with other animal species, ALT has lower liver activity and thus lower liver specificity in rabbits (Clampitt and Hart, 1978; Boyd, 1983; Rosenthal, 1997). The half-life of ALT in rabbits is only 5.1 hours (Bogin et al., 1977) and therefore the ALT activity measured in a blood sample depends greatly on the severity and time of cell damage relative to the time of blood collection. Increased ALT activity was reported in rabbits with more severe hepatocellular damage (Boyd, 1983; Meredith and Rayment, 2000; Hein, 2009). In the present study, increased ALT activity was seen in 22 of the 77 (31.4%) rabbits (Tab. 2), most often in rabbits with lipidosis (10/36) and hepatitis (9/34) (Tab. 1A). The maximum activity level (26 times the upper limit of the reference interval) was measured in one rabbit with fibrosis of the liver. In the diagnostic categories of cirrhosis, fibrosis and neoplasia, the activity of ALT was increased in only 2 rabbits (Tab. 1A). There are reports of increased ALT activity in rabbits after experimentally-induced fibrosis (Mastai et al., 1996), cirrhosis (Brandao et al., 2000) and neoplasia (Reznik and Padberg, 1991). However, because these were experimental studies that measured enzyme activities at defined intervals and under standardised conditions taking into account the half-life of ALT, comparison with our findings is not meaningful. In the present study, sensitivities of ALT greater than 0.8 were calculated for rabbits with lipidosis and hepatitis. Even higher sensitivities, albeit accompanied by greater confidence intervals because of the small number of rabbits, were calculated for the diagnostic groups with neoplasia and fibrosis. Therefore, these results should be interpreted with caution (Tab. 4). Significant increases in the activity of ALT were reported in rabbits experimentally infected with *E. stiedae* (Hein, 1977; Ragnitz, 1993) and rabbits with hepatic lobe torsions (Fitzgerald and Fitzgerald, 1992; Wenger et al., 2009; Stanke et al., 2011; Graham et al., 2014). There were 2 cases of hepatic coccidiosis in the present study and the ALT activity was increased above the reference interval in one. In rabbits with hepatic coccidiosis, the increase in serum ALT

activity is a function of the extent of hepatocellular damage (San Martin-Nunez et al., 1988; Al-Quraishy et al., 2011).

The Pearson correlation analysis (Tab. 4) showed a significant ($p < 0.01$) and very strong correlation ($r \geq 0.9$) between the activities of ALT and AST and between the activities of ALT and GGT. Increases in ALT activity accompanied by increases in AST and GGT activities have been described (Hein, 1977; Matthes and Ragnitz, 1999; Harcourt-Brown, 2002) and so have simultaneous increases in ALT and AST activities (Winkelmann, 1974; Mastaï et al., 1996; Brandao et al., 2000; Ferreira et al., 2006). These observations could be explained by a shared cytoplasmic position and simultaneous release in hepatic cell damage. In summary, moderate increases in ALT activity are seen in about one third of rabbits with hepatopathy, and there are strong positive correlations between its activity and that of other liver enzymes.

Aspartate aminotransferase is located in the cytoplasm and mitochondria (Fischer, 1977; Willard and Twedt, 2006). In rabbits, AST has the highest activity in cardiac muscle and liver, followed by skeletal muscle, kidney and pancreas (Clampitt and Hart, 1978; Keller, 1979; Boyd, 1983) and therefore is not regarded as liver-specific in this species (Boyd, 1983; Benson and Paul-Murphy, 1999; Saunders and Davies, 2005). Although AST is thought to be unsuitable for early diagnosis of liver disease in rabbits (Hein, 2009), our results showed that its activity increased (Tab. 1) in 14 of 20 (70.0%; Tab. 2) rabbits. The diagnostic sensitivity of AST was high in rabbits with lipidosis, hepatitis, fibrosis and bile duct disease (Tab. 3).

A maximum activity of 138 times the upper reference interval value was measured in one rabbit with hepatic lipidosis and additionally acute hepatic necrosis that occurred after hepatitis (Tab. 2). Muscle damage, coagulation, in-vivo and in-vitro haemolysis and enteritis also can elevate AST activity (Gascon and Verd, 1985; Hein, 2002; Neumann, 2014). In 6 of the 14 rabbits with increased AST activity in the present study, muscle damage (e. g., infection with *E. cuniculi* [$n = 5$] and severe dyspnea [$n = 1$]) may have been responsible for increased AST activity. Therefore, AST activity values should be interpreted with caution. In rabbits, the diagnostic sensitivity of AST activity has not been validated for specific hepatopathies, and published reports of increases in AST activity in rabbits with hepatopathy are limited to experimentally-induced biliary coccidiosis (Hein, 1977; Gomez-Bautista et al., 1987; Abdel-Ghaffar et al., 1990; Ragnitz, 1993; Matthes and Ragnitz, 1999), cirrhosis (Brandao et al., 2000) and fibrosis (Mastaï et al., 1996). Taken together, these results indicate that AST activity may be a sensitive parameter of liver disease and has positive correlations with other liver parameters (Tab. 4). However, it must not be interpreted without considering other causes of increased AST activity (e. g., muscle damage or haemolysis).

In rabbits, alkaline phosphatase is considered an induced enzyme that is not liver-specific and is found mainly in the small intestines, osteoblasts, and renal tubule cells (Clampitt and Hart, 1978). Some authors consider that increased AP activity may indicate hepatobiliary obstruction and cholestasis (Boyd, 1983; Jenkins, 2000; Meredith and Rayment, 2000; Saunders and Davies, 2005), while other authors feel that its diagnostic usefulness is limited in rabbits (Hein and Lämmler, 1978; Hein, 2009). Of note, AP activity did not exceed the reference interval in any of the rabbits in the present study (Tab. 1A and 2) and was the only parameter that was not significantly correlated with any other parameter (Tab. 4). In rabbits with hepatitis, neoplasia or necrosis of the liver, AP had high diagnostic sensitivity but large confidence intervals (Tab. 3), most likely because of a small sample size. Experimental infection with *E. stiedae* (Hein and Lämmler, 1978) and surgical ligation of the bile duct did not cause a significant increase in AP activity (Hadjis et al., 1990) but activity increases up to 600 IU/l were measured in 2- and 4-month-old rabbits following ligation and experimental injury to the bile duct epithelium (Gomez-Bautista et al., 1987). Alkaline phosphatase activity is usually higher in young growing animals because of bone remodelling which must be considered when interpreting results (Fischer, 1977; Neumann, 2014). Our results indicate that AP activity usually is not elevated in rabbits with liver disease and does not seem to have sufficient diagnostic sensitivity, making it unsuitable for detecting hepatopathies.

The enzyme GGT has considerable liver specificity (Saunders and Davies, 2005) and can be used to diagnose posthepatic obstruction (Mc Laughlin and Fish, 1997; Meredith and

Raymont, 2000). However, it does not increase in liver disease reliably (Saunders and Davies, 2005; Hein, 2009) and its significance as an indicator of hepatocellular damage is disputed (Mc Laughlin and Fish, 1997; Meredith and Raymont, 2000). This enzyme is bound to the mitochondrial matrix and its highest tissue activity is in the kidney and skeletal muscle rather than in bile duct epithelium (Keller, 1979; Ratanasavanh et al., 1981; Roomi and Goldberg, 1981; Braun et al., 1983; Sulakhe and Lutt, 1985). In the present study, GGT was increased in all diagnostic groups, but it must be remembered that sample sizes were small (Tab. 1). Of 14 rabbits with GGT activity measurements, 6 (42.9%) had increased values; the GGT activity in 1 rabbit with liver cirrhosis and fibrosis (Tab. 2) was 23 times higher than the upper limit of the reference interval. The diagnostic sensitivity of GGT was high in rabbits with lipidosis, cirrhosis, neoplasia and fibrosis (Tab. 3). Accordingly, significant increases in GGT activity were also observed in rabbits with experimentally-induced cirrhosis (Brandao et al., 2000), extrahepatic cholestasis (Adjarov et al., 1976) and experimental *E. stiedae* and *Eimeria coecicola* infection (Hein and Lämmler, 1978; Matthes and Ragnitz, 1999; Al-Quraishy et al., 2011). Only moderate increases in GGT activity were measured in 2 rabbits with hepatic lobe torsion (Wenger et al., 2009) and bile duct coccidiosis (Joyner et al., 1983; Gomez-Bautista et al., 1987). Of note, the GGT activity was not measured in rabbits with coccidiosis in the present study, and hepatic lobe torsion did not occur. There were very high correlations between GGT activity and ALT and AST activities and bilirubin concentrations (Tab. 4). There are reports of simultaneous increases in the activities of GGT, AST and ALT (Hein, 1977; Ragnitz, 1993), and increased activity of GGT and bilirubin concentration in rabbits with hepatobiliary obstruction (Adjarov et al., 1976; Meredith and Raymont, 2000). The enzyme GGT increases less often than other liver enzymes and has diagnostic usefulness in rabbits with hepatopathies but does not appear to be sensitive enough to serve as sole diagnostic criterion.

In rabbits, GLDH is regarded as a liver-specific, (Clampitt and Hart, 1978; Keller, 1979; Boyd, 1983) mitochondrial enzyme (Hein, 2009) that is found predominantly in the centrolobular region of the liver (Moss et al., 1986; Mc Laughlin and Fish, 1997). Because of its location, GLDH would be expected to be a suitable first indicator of hepatocyte damage. In the present study, 12 of 24 (50.0%) rabbits with lipidosis and seven of 17 rabbits (29.2%) with hepatitis had GLDH activities above the reference interval (Tab. 1A). This was not surprising considering that lipidosis and hepatitis are acute diseases. An increase in GLDH activity was measured in 20 of 52 (38.5%) rabbits with liver disease with activities up to 44 times the upper limit of the reference interval (Tab. 2). The diagnostic sensitivity of GLDH was high in rabbits with fibrosis of the liver and bile duct disease (Tab. 3). Increased GLDH activities were most commonly described in rabbits experimentally infected with *E. stiedae* (Hein and Lämmler, 1978; Joyner et al., 1983) and in rabbits with experimentally-induced coccidiosis of the bile ducts (Hein, 1977; Ragnitz, 1993; Matthes and Ragnitz, 1999); however, these diagnoses were rare in the present study. There are no other clinical studies of GLDH in rabbits with liver disease and thus comparison of our results is not possible.

This enzyme appears to increase in hepatopathies of rabbits but its diagnostic sensitivity is not sufficient to serve as a sole indicator of liver disease. Further studies conducted under standardised conditions and involving larger sample sizes are needed.

In rabbits, biliverdin is the main product of haemoglobin degradation and therefore, serum bilirubin concentrations are low compared with carnivores (Munoz et al., 1986; Jenkins, 2000). Bilirubin is mainly viewed as a parameter for monitoring bile duct and liver function in rabbits (Jenkins, 2000; Meredith and Raymont, 2000; Harcourt-Brown, 2002). Accordingly, an increase in the bilirubin concentration was most commonly seen in relation to fibrosis of the liver, bile duct disease, lipidosis (Tab. 1B), hepatopathies associated with biliary obstruction, cholestasis and other alterations in liver function. Increased bilirubin concentrations of up to 16 times the upper limit of the reference interval were measured in 13 of 55 (23.6%) of rabbits (Tab. 2). The diagnostic sensitivity of bilirubin was high in rabbits with neoplasia, lipidosis and hepatitis (Tab. 3). Hyperbilirubinaemia was described in rabbits with bile duct neoplasia (Meredith and Raymont, 2000) and in rabbits with experimentally-induced fibrosis (Mastai et al., 1996) and cirrhosis (Brandao et al., 2000). In the present study, the bilirubin concentration

was significantly associated with neoplastic disease and rabbits with neoplasms ($n = 3$) had lower mean bilirubin concentration than rabbits without neoplasms. Solitary tumours (adenocarcinoma, bile duct adenoma) and metastases (uterine adenocarcinoma) obviously did not impair liver function or the flow of bile. Compared with other liver parameters, bilirubin appeared to increase when hepatocellular function is disturbed. However, because of possible pre- or posthepatic effects on bilirubin concentration, this parameter should not be interpreted alone.

A decrease in total protein, albumin and glucose concentrations was seen mostly in rabbits with lipidosis (Tab. 1B). Overall, only 23 of 63 rabbits (17.5%) had hypoproteinaemia (Tab. 2). The protein concentration in serum is controlled by protein synthesis in the liver and by protein loss, for instance in chronic enteropathy or nephropathy (Harcourt-Brown, 2002; Saunders and Davies, 2005), and by the hydration status. 14 of 66 (21.2%) rabbits had hypoalbuminaemia (Tab. 2), which may have been the result of reduced nutritional intake, reduced synthesis of albumin, or loss of albumin in the urine or intestinal tract or leakage of albumin from blood vessels. Hypoproteinaemia is seen in rabbits with chronic hepatitis or coccidiosis but also in association with inadequate food intake and malnutrition (Mc Laughlin and Fish, 1997; Harcourt-Brown, 2002; Saunders and Davies, 2005). Although albumin and total protein concentrations are related to the severity of liver damage, they are unreliable indicators of liver disease because their concentrations also depend on other factors.

Low urea concentrations occur with liver dysfunction, reduced protein intake and use of anabolic agents (Mc Laughlin and Fish, 1997; Benson and Paul-Murphy, 1999; Harcourt-Brown, 2002). Serum urea concentration below the reference interval was seen in only 1 of 74 (1.4%) rabbits and increased concentrations were measured in 42 of 72 (56.8%) rabbits (Tab. 2). Thus, a decrease in serum urea concentration does not appear to be a typical feature of hepatopathy in rabbits. Azotaemia was common and likely associated with dehydration rather than liver disease (Saito and Hasegawa, 2003). Hypoglycaemia was seen in 15 of 67 (22.4%) rabbits and hyperglycaemia in 5 (7.5%). Hypoglycaemia can be a sign of impaired liver function but also occurs after chronic malnutrition (anorexia, enteropathy) or with increased glucose utilisation (sepsis, extreme stress) (Vetesi and Kutas, 1974; Harcourt-Brown, 2002; Saunders and Davies, 2005). The rabbits in the present study were all severely ill and therefore it is likely that many of them had had periods of anorexia before they were referred to the clinic. To summarise, hypoglycaemia and low serum urea concentrations should be interpreted with caution, and extrahepatic causes of these conditions must be ruled out before they are linked to liver dysfunction.

This was a retrospective study and therefore it has some unavoidable limitations. Some liver parameters were only measured in a relatively small number of rabbits, and some diagnostic categories were small. Furthermore, there was considerable variation among the number of measurements per liver parameter. These factors can affect the reliability of the results and lead to overestimation or underestimation of the importance of particular parameters. Clinical examinations and diagnostic workups were done by different clinicians. Another limitation is the lack of a healthy control group or a group of rabbits with extrahepatic diseases, which would have allowed us to calculate negative predictive values.

This was a retrospective evaluation of laboratory results of rabbits with confirmed hepatopathies that examined frequency distributions, diagnostic sensitivities, and correlations among liver parameters. Hepatopathy was confirmed cytologically and/or histologically and therefore, the diagnostic sensitivities of abnormal liver enzyme activities and biochemical liver parameters could be evaluated, for the first time, vis-à-vis a gold standard. The study provides an overview of the diagnostic value of the examined liver parameters. The activities of AST, GGT, GLDH and ALT are sensitive to hepatobiliary damage but the AP activity is not in rabbits. However, no statistically significant associations between enzyme activities and specific hepatopathies could be established. Further prospective studies of larger numbers of rabbits with exact histopathological diagnoses and standardised blood collection protocols, with the inclusion of control groups, are needed to calculate negative and positive diagnostic predictive values of liver parameters.

References

- Abdel-Ghaffar F, Marzouk M, Ashour MB, Mosaad MN (1990): Effects of *Eimeria labbeana* and *E. stiedai* infection on the activity of some enzymes in the serum and liver of their hosts. *Parasitol Res* 76: 440–443.
- Adjarov D, Popov S, Ivanov E (1976): Studies on the mechanism of the changes in serum and liver. *Enzyme* 21: 1–7.
- Al-Quraishy S, Metwaly MS, Dkhil MA, Abdel-Baki A-AS, Wunderlich F (2011): Liver response of rabbits to *Eimeria coecicola* infections. *Parasitol Res* 110: 901–911.
- Amelung D (1960): Untersuchungen zur Größe der Eliminations-geschwindigkeit von Fermenten aus dem Kaninchenserum. *Hoppe-Seyler's Zeit Physiol Chem* 318: 219–228.
- Benson KG, Paul-Murphy J (1999): Clinical pathology of the domestic rabbit. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2:3: 539–552.
- Bogin F, Fischer B, Sommer H (1977): Half lives of Glutamic-Oxalacetic-Transaminase, Alkaline Phosphatase and Lactic-Dehydrogenase in Rabbit Blood. *Zbl Vet Med A* 24A: 72–75.
- Boyd JW (1983): The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals. *Vet Clin Pathol* 12: 9–24.
- Brandao CG, Ferreira HHA, Piovesana H, Polimeno NC, Ferraz JGP, Nucci de G, Pedrazzoli JJr (2000): Development of an experimental model of liver cirrhosis in rabbits. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27: 987–990.
- Braun JP, Benard P, Burgat V, Rico AG (1983): Gamma Glutamyl Transferase in domestic animals. *Vet Res Commun* 6: 77–90.
- Cam Y, Atasever A, Eraslan G, Kibar M, Atalay Ö, Beyaz L, Inci A, Liman BC (2008): *Eimeria stiedae*: Experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. *Exp Parasitol* 119: 164–72.
- Clampitt RB, Hart RJ (1978): The tissue activities of some diagnostic enzymes in ten mammalian species. *J Comp Path* 88: 607–621.
- De Cubellis J, Kruse AM, McCarthy RJ (2010): Biliary Cystadenoma in a Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Exot Pet Med* 19, No 2 (April): 177–182
- Ferreira PG, Costa-E-Silva A, Monteiro E, Oliveira MJR, Aguas AP (2006): Liver enzymes and ultrastructure in rabbit haemorrhagic disease (RHD). *Vet Res Commun* 30: 393–401.
- Fischer B (1977): Klinisch-chemische Untersuchungen im Blut weiblicher Kaninchen: Bestimmung von Referenzbereichen, Korrelationen, Einflussfaktoren und Beziehungen zu Produktionsleistungen. Bonn, Landwirtschaftl Fak., Diss.
- Fitzgerald AL, Fitzgerald SD (1992): Hepatic lobe torsion in a New Zealand white rabbit. *Canine Practice* 17: 16–19.
- Gascon M, Verd M (1985): The study of biochemical profiles in diarrheal rabbits. *J Appl Rabbit Res* 8: 141–143.
- Gomez-Bautista M, Rojo-Vasquez FA, Alunda JM (1987): The effect of the host's age on the pathology of *Eimeria stiedai* infection in rabbits. *Vet Parasitol* 24: 47–57.
- Graham JE, Orcutt CJ, Casale SA, Ewing PJ, BassechesJ (2014): Liver lobe torsion in rabbits: 16 cases (2007 to 2012). *J Exot Pet Med* 23: 258–265.
- Hadjis NS, Blenkham JI, Hatzis G, Adam A, Beacham J, Blumgart LH (1990): Patterns of serum alkaline phosphatase activity in unilateral hepatic duct obstruction. *Surgery* 107: 193–200.
- Harcourt-Brown F (2002): Anorexia in rabbits. Diagnosis and treatment. In *Pract* 9: 450–467.
- Harcourt-Brown F (2002): Textbook of Rabbit Medicine. Butterworth Heinemann, 1st ed., Oxford, Woburn, Clinical Pathology: 140–164.
- Hein B (1977): Zur Pathophysiologie der Gallengangscoccidiose des Kaninchens. Gießen, Diss med vet.
- Hein B, Lämmle E (1978): Veränderung der Enzymaktivitäten im Serum bei *Eimeria stiedai* infizierten Kaninchen. *Z Parasitenk* 57: 199–211.
- Hein J (2002): Labordiagnostische Referenzbereiche bei Kaninchen und Meerschweinchen. München, Diss med vet.
- Hein J, Hartmann K (2003): Labordiagnostische Referenzbereiche bei Kaninchen. *Tierärztl Prax* 31(K): 321–328.
- Hein J (2009): Für Studium und Praxis: Anorexie beim Kaninchen – diagnostische Aufarbeitung und erster therapeutischer Ansatz. *Tierärztl Prax* 37(K): 129–138.

- Jenkins RJ (2000): Rabbit and Ferret Liver and Gastrointestinal Testing. In: Fudge AM (ed.), Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. Philadelphia, Saunders, 291–304.
- Joyner LP, Catchpole J, Berret S (1983): *Eimeria stiedai* in rabbits: the demonstration of responses to chemotherapy. Res Vet Sci 34: 64–67.
- Keller P (1979): Enzymaktivitäten bei kleinen Haus- und Laboratoriumstieren: Organanalysen, Plasmaspiegel und intrazelluläre Verteilung. Kleintierprax 24: 51–68.
- McLaughlin RM, Fish RE (1997): Clinical Biochemistry and Hematology. In: Manning PF (ed.), The biology of the laboratory rabbit. San Diego: Academic Press, 111–124.
- Mastai R, Laganieri S, Wanless IR, Giroux L, Rocheleau B, Huet PM (1996): Hepatic sinusoidal fibrosis induced by cholesterol and stilbestrol in the rabbit. Hepatology 24: 865–870.
- Matthes S, Ragnitz S (1999): Serumenzymaktivitäten bei gesunden und darmkranken Jungmastkaninchen. Tierarztl Umsch 54: 158–164.
- Meredith A, Rayment L (2000): Liver disease in rabbits. J Exot Pet Med 9: 146–152.
- Metechkina A, Mishunina TM (1977): Changes in alanin amino transferase and aspartat aminotransferase activity in some tissues of rabbits with hydrocortisone and acth administration. Ukr Biochem J 49/1: 72–77.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF (1986): Enzymes. In: Tietz NM (ed.), Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia, Pennsylvania, Saunders, 619–774.
- Munoz ME, Gonzales J, Esteller A (1986): Bile pigment formation and excretion in the rabbit. Comp Biochem Physiol Part A 85: 67–71.
- Neumann S (2014): Leber. In: Moritz A (ed.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 3rd, Stuttgart, Schattauer: 215–275.
- Quesenberry KE (2000): Rabbits. In: Birchard SJ, Sherding RG (ed.): Saunders manual of small animal practice, 2nd, Philadelphia, WB Saunders, 1493–1511.
- Ragnitz S (1993): Investigations on enzyme activities in the serum of healthy and sick young rabbits. Hannover, Diss. med. vet.
- Ratanasavanh D, Magdalou J, Antoine B, Galteau M-M, Siest G (1981): Gamma-Glutamyltransferase activity of liver plasma membranes in phenobarbital-treated rabbits. Pharmacol Res Commun 13: 909–919.
- Reznik GK, Padberg G (1991): Diethylnitrosamine-induced metastasizing hepatocellular carcinomas in New Zealand white rabbits. Journal Cancer Res Clin Oncol 117: 123–129.
- Roche Diagnostics (2000): Description of the testing procedure, system package for Hitachi 911® (creatinine, fructosamine, serum bile acids, bilirubin, total protein, magnesium, glutamate dehydrogenase, urea), Mannheim.
- Roche Diagnostics (2001): Description of the testing procedure, system package for Hitachi 911® (albumin, alkaline phosphatase, aspartate transaminase, cholesterol, glucose, lipase, triglyceride, α -amylase), Mannheim.
- Roche Diagnostics (2002): Description of the testing procedure, system package for Hitachi 911® (alanine transaminase, cholinesterase, creatine kinase, iron, lactate dehydrogenase, phosphate, γ -glutamyl transpeptidase), Mannheim.
- Roomi MW, Goldberg DM (1981): Comparison of γ -Glutamyl transferase induction by Phenobarbital in the rat, guinea pig and rabbit. Biochem Pharmacol 30: 1563–1571.
- Rothuizen J, Meyer HP (2000): History, physical examination, and signs of liver disease. In: Ettinger SL, Feldmann EC (ed.), Textbook of veterinary internal medicine, 5th edn, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1277–1293.
- Saito K, Hasegawa A (2003): Diseases and outcomes in rabbits with high BUN levels. J Vet Med Sci 65: 625–628.
- San-Martin-Nunez V, Ordonez-Escudero D, Alunda JM (1988): Preventive Treatment of Rabbit Coccidiosis with a-Difluoromethylornithine. Veterinary Parasitology 30: 1–10.
- Saunders R, Davies RR (2005): Notes on rabbit internal medicine, Blackwell Publishing, 1st ed., Oxford (UK), Iowa (USA), Victoria (AUS).
- Shiga J, Wataru M (1985): Protracted histopathological change of the liver necrosis induced by Schwartzman reaction. Acta Pathol Jpn 35: 103–107.
- Stanke NJ, Graham JE, Orcutt CJ, Reese CJ, Bretz BK, Ewing PJ, Basseches J (2011): Succesful outcome of hepatectomy as treatment for liver lobe torsion in four domestic rabbits. J Am Vet Med Assoc 238: 1176–38.
- Sulakhe SJ, Lauth WW (1985): The activity of hepatic γ -Glutamyl-transpeptidase in various animal species. Comp Biochem Physiol 82: 263–264.
- Tennant BC, Balazs T, Baldwin BH, Hornbuckle WE, Castleman WL, Boelsterli U, Kallefelz FA (1981): Assessment of hepatic function in rabbits with steroid-induced cholestatic liver injury. Fundam Appl Toxicol 1: 329–333.

- Vetesi F, Kutas F (1974): Mucoïd enteritis in the rabbit associated with *E. coli*. Acta Vet Hung 24: 303–311.
- Wanless IR, Belgiorno J, Huet P-M (1996): Hepatic sinusoidal fibrosis induced by cholesterol and stilbestrol in the rabbit: 1. Morphology and inhibition of fibrogenesis by dipyridamole. Hepatology 24: 855–864.
- Weisbroth SH (1994): Neoplastic Diseases. In: Manning PJ (ed.): The biology of the laboratory rabbit, 2nd ed., Academic press: 259–278.
- Wenger S, Barrett EL, Pearson GR, Sayers I, Blakey C, Redrobe S (2009): Liver lobe torsion in three adult rabbits. J Small Anim Pract 50: 301–305.
- Willard MD, Twedt DC (2006): Lebererkrankungen. In: Willard MD, Tvedten H (eds): Labordiagnostik in der Kleintierpraxis. Urban & Fischer, München, 287–304.
- Winkelmann J (1974): Infektiösität und Pathogenität von *Capillaria hepatica* im SPF Kaninchen. Gießen, Diss. med. vet.

Table 1A: Number of hepatopathies with enzyme activities within, below and above the reference interval
(I = number of cases within the reference interval, J = number of cases below the reference interval, I = number of cases above the reference interval, n = number of cases with proven hepatopathy)

	n	ALT (n = 70)			AST (n = 20)			AP (n = 35)			GLDH (n = 52)			GGT (n = 14)		
		J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)
Lipidosis	40	0	26	10	0	3	10	5	17	0	0	12	12	1	5	2
		-	(72.2)	(27.8)	-	(23.1)	(76.9)	(22.7)	(77.3)	-	-	(50.0)	(50.0)	(12.5)	(62.5)	(12.5)
Inflammation	35	1	24	9	0	3	2	3	9	0	0	17	7	0	1	2
		(2.9)	(70.6)	(26.5)	-	(60.0)	(40.0)	(25.0)	(75.0)	-	-	(70.8)	(29.2)	-	(33.3)	(66.7)
Other liver diseases	18	0	8	8	0	3	4	0	8	0	0	9	2	0	2	2
		-	(50.0)	(50.0)	-	(42.9)	(57.1)	-	(100.0)	-	-	(81.8)	(18.2)	-	(50.0)	(50.0)
Bile duct disease	13	0	10	2	0	0	1	1	4	0	0	7	3	1	0	2
		-	(83.3)	(16.7)	-	-	(100.0)	(20.0)	(80.0)	-	-	(70.0)	(30.0)	(33.3)	-	(66.7)
Fibrosis	9	0	6	1	0	1	1	0	3	0	0	6	2	0	0	2
		-	(85.7)	(14.3)	-	(50.0)	(50.0)	-	(100.0)	-	-	(75.0)	(25.0)	-	-	(100.0)
Neoplasia	5	0	4	1	0	0	0	0	1	0	0	3	1	1	0	0
		-	(80.0)	(20.0)	-	-	-	-	(100.0)	-	-	(75.0)	(25.0)	(100.0)	-	-
Cirrhosis	4	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	3	1	0	0	1
		-	(100.0)	-	-	-	-	(100.0)	-	-	-	(75.0)	(25.0)	-	-	(100.0)

Table 1b: Number of hepatopathies with concentrations of substrates within, below and above the reference interval (I = number of cases within the reference interval, J = number of cases below the reference interval, I = number of cases above the reference interval, n = number of cases with proven hepatopathy)

	n	Bilirubin (n = 55)			Total protein (n = 63)			Albumin (n = 66)			Urea (n = 74)			Glucose (n = 67)		
		J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)	J (%)	I (%)	I (%)
Lipidosis	40	0	20	4	8	20	5	9	22	3	1	17	21	6	27	2
		-	(83.3)	(16.7)	(24.2)	(60.6)	(15.2)	(26.5)	(64.7)	(8.8)	(2.6)	(43.6)	(53.8)	(17.1)	(77.1)	(5.7)
Inflammation	35	1	20	6	2	19	7	4	25	2	1	10	23	7	17	4
		(3.7)	(74.1)	(22.2)	(7.1)	(67.9)	(25.0)	(12.9)	(80.6)	(6.5)	(2.9)	(29.4)	(67.6)	(25.0)	(60.7)	(14.3)
Other liver diseases	18	0	9	4	2	7	5	2	12	2	0	7	8	3	11	1
		-	(69.2)	(30.8)	(14.3)	(50.0)	(35.7)	(12.5)	(75.0)	(12.5)	-	(46.7)	(53.3)	(20.0)	(73.3)	(6.7)
Bile duct disease	13	0	7	4	0	10	1	1	10	0	0	8	5	4	6	1
		-	(63.6)	(36.4)	-	(90.9)	(9.1)	(9.1)	(90.9)	-	-	(61.5)	(38.5)	(36.4)	(54.5)	(9.1)
Fibrosis	9	0	4	4	0	6	2	1	6	1	0	7	2	3	5	0
		-	(50.0)	(50.0)	-	(75.0)	(25.0)	(12.5)	(75.0)	(12.5)	-	(77.8)	(22.2)	(37.5)	(62.5)	-
Neoplasia	5	0	3	0	1	2	1	2	2	0	0	2	3	1	4	0
		-	(100.0)	-	(25.0)	(50.0)	(25.0)	(50.0)	(50.0)	-	-	(40.0)	(60.0)	(20.0)	(80.0)	-
Cirrhosis	4	0	2	2	0	3	1	1	3	0	0	3	1	2	1	1
		-	(50.0)	(50.0)	-	(75.0)	(25.0)	(25.0)	(75.0)	-	-	(75.0)	(25.0)	(50.0)	(25.0)	(25.0)

Table 2: Statistical parameters and behaviour of liver enzymes and substrates of rabbits with confirmed hepatopathy (n = 77) (Ref = Reference Interval, ØRefG = number of cases with activities/concentrations outside of the reference interval, RefI = number of cases with activities/concentrations above the reference interval, Fold increase = Maximum value : highest reference value, Min = Minimum, Max = Maximum, Mean = Mean Value, Med = Median, GRefØ = number of cases with activities/concentrations within the reference interval, RefJ = number of cases with activities/concentrations below the reference interval, n = number, % = percentage)

Parameter	Unit	n	Ref	ØRefG n (%)	RefI n (%)	Fold increas e	Min	Max	Mean	Med	GRefØ n (%)	RefJ n (%)
Enzymes												
ALT	IU/l	70	11–61	23 (32.8)	22 (31.4)	26.0	10	1591	100.1 0	38.50	47 (67.1)	1 (1.4)
AST	IU/l	20	4–28	14 (70.0)	14 (70.0)	138.0	12	3872	324.0 0	91.00	6 (30.0)	0 (0.0)
AP	IU/l	35	26–397	7 (20.0)	0 (0.0)	0.0	15	256	69.03	50.00	28 (80.0)	7 (20.0)
GLDH	IU/l	52	0–19	20 (38.5)	20 (38.5)	44.0	1	398	43.55	9.20	32 (61.5)	0 (0.0)
GGT	IU/l	14	3–13	7 (50.0)	6 (42.9)	23.0	2	303	37.64	13.00	7 (50.0)	1 (7.1)
substrates												
Bilirubin	µmol/l	55	0.30–2.53	14 (25.5)	13 (23.6)	15.7	0.00	39.80	3.32	1.70	41 (74.5)	1 (1.8)
Albumin	g/l	66	35.60– 56.80	20 (30.3)	6 (9.1)	1.1	15.60	63.12	44.51	47.10	46 (69.7)	14 (21.2)
Total protein	g/l	63	48.90– 73.90	23 (36.5)	12 (19.0)	1.2	31.10	85.0	62.27	62.10	40 (63.5)	11 (17.5)
Urea	mmol/l	74	2.05–8.42	42 (56.8)	41 (55.4)	12.2	0.56	102.6 0	16.09	10.84	32 (43.2)	1 (1.4)
Glucose	mmol/l	67	5.83–14.83	20 (29.9)	5 (7.5)	1.8	2.01	26.17	8.45	7.81	47 (70.1)	15 (22.4)

Table 3: Diagnostic parameters and cut points of value pairs (CI = 95% confidence interval, Sens = Sensitivity), using the reference intervals and the ROC-generated cut-off values for distinguishing animals with and without the specific disease

		ALT	AST	AP	GLDH	GGT	Bilirubin	Total protein	Albumin	Urea	Glucose
Lipidosis	Cut point	> 24	> 23	< 176	> 12.35	< 304	> 1.19	< 64.90	> 60.46	> 4.53	< 0.38
	Sens	83.3	84.6	86.4	58.3	100.0	91.7	54.2	94.1	92.3	60.0
	CI (%)	68.1–92.1	57.8–95.7	66.7–95.3	38.8–75.5	67.6–100.0	74.2–97.7	38.0–70.2	80.9–98.4	79.7–97.4	43.6–74.4
Inflammation	Cut point	< 179	< 574	> 22	< 198	> 13.5	> 1.12	> 59.85	> 43.65	< 17.35	> 10.92
	Sens	88.2	80.0	100.0	91.7	66.7	96.3	71.4	71.0	64.7	74.1
	CI (%)	73.4–95.3	37.6–96.4	75.8–100	74.2–97.7	20.8–93.9	81.7–99.3	52.9–84.8	53.4–84.0	47.9–78.5	55.3–86.8
Other liver diseases	Cut point	> 32	> 110	> 25	> 2.0	> 13	> 1.31	< 75.55	> 48.74	< 53.85	< 5.40
	Sens	78.6	57.1	100.0	100.0	75.0	92.3	64.3	68.8	100.0	86.7
	CI (%)	52.4–92.4	25.1–84.2	67.6–100.0	74.1–100.0	30.1–95.4	66.7–98.6	38.8–83.7	44.4–85.8	79.6–100.0	62.1–96.3
Bile duct disease	Cut point	< 1511	> 39	> 63	< 354.3	> 16	< 10.56	> 54.00	> 35.23	< 72.26	< 0.55
	Sens	91.7	100.0	80.0	90.0	66.7	72.7	100.0	91.0	92.3	54.5
	CI (%)	64.6–98.5	20.7–100.0	37.6–96.4	59.6–98.2	20.8–93.9	43.4–90.3	74.1–100.0	62.3–98.4	66.7–98.6	28.0–78.7
Fibrosis	Cut point	> 28	< 2291	> 144	> 2.6	> 16	> 1.87	> 55.25	< 42.65	< 32.35	< 3.64
	Sens	85.7	100.0	66.7	100.0	100.0	75.0	100.0	50.0	100.0	100.0
	CI (%)	48.7–97.4	34.2–100.0	20.8–93.9	67.6–100.0	34.2–100.0	40.9–92.9	67.6–100.0	15.0–85.0	70.1–100.0	67.6–100.0
Neoplasia	Cut point	> 16	-	> 80	> 4	< 304	> 0.53	< 81.70	< 29.74	> 13.94	< 4.99
	Sens	100.0	-	100.0	58.3	100.0	100.0	75	100.0	60.0	100.0
	CI (%)	56.6–100.0	-	20.7–100.0	38.8–75.5	20.7–100.0	43.9–100.0	30.1–95.4	51.0–100.0	23.1–88.2	56.6–100.0
Cirrhosis	Cut point	> 40	-	> 23	75.0	> 200	> 10.56	> 56.85	< 41.86	< 55.15	> 10.92
	Sens	66.7	-	100.0	75.0	100.0	50.0	100.0	75.0	100.0	75.0
	CI (%)	20.7–93.9	-	20.7–	30.1–95.4	20.7–	15.0–85.0	51.0–100.0	30.1–	51.0–	30.1–95.4

				100.0		100.0			95.4	100.0	
--	--	--	--	-------	--	-------	--	--	------	-------	--

Table 4: *P-values (2-sided) and correlations between laboratory parameters following Pearson (r = correlation coefficient ($r \geq 0.9$ = very high correlation [italics], $r \geq 0.7$ = high correlation, $r \geq 0.5$ = medium correlation, $r \geq 0.2$ low correlation; $-r$ = negative/reverse correlation), n = number of samples, p = p -value ($p \leq 0.05$ = significant [bold]))*

		ALT	AST	AP	GGT	Bilirubin	GLDH	Protein	Albumin	Urea
AST	r	<i>0.996</i>								
	p	0.001								
	n	17								
AP	r	0.311	0.056							
	p	0.088	0.837							
	n	31	16							
GGT	r	<i>0.976</i>	<i>0.964</i>	0.503						
	p	0.001	0.001	0.114						
	n	12	12	11						
Bilirubin	r	0.737	0.049	0.091	<i>0.996</i>					
	p	0.001	0.864	0.653	0.001					
	n	50	15	27	11					
GLDH	r	0.698	0.728	0.279	0.183	0.365				
	p	0.001	0.001	0.279	550	0.019				
	n	47	16	17	13	41				
Protein	r	-0.361	-0.457	0.081	-0.036	-0.049	-0.267			
	p	0.005	0.075	0.683	0.911	0.743	0.084			
	n	59	16	28	12	47	43			
Albumin	r	-0.192	-0.120	0.360	-0.526	-0.386	-0.247	0.663		
	p	0.138	0.646	0.055	0.079	0.006	0.097	0.001		
	n	61	17	29	12	50	46	62		
Urea	r	0.019	0.336	-0.094	-0.053	0.135	0.315	0.075	-0.014	
	p	0.876	0.160	0.596	0.858	0.337	0.026	0.560	0.911	
	n	70	19	34	14	53	50	63	65	
Glucose	r	-0.183	-0.053	0.140	-0.601	-0.101	-0.152	0.259	0.371	0.114
	p	0.151	0.839	0.452	0.039	0.492	0.308	0.050	0.004	0.359
	n	63	17	31	12	49	47	58	60	67

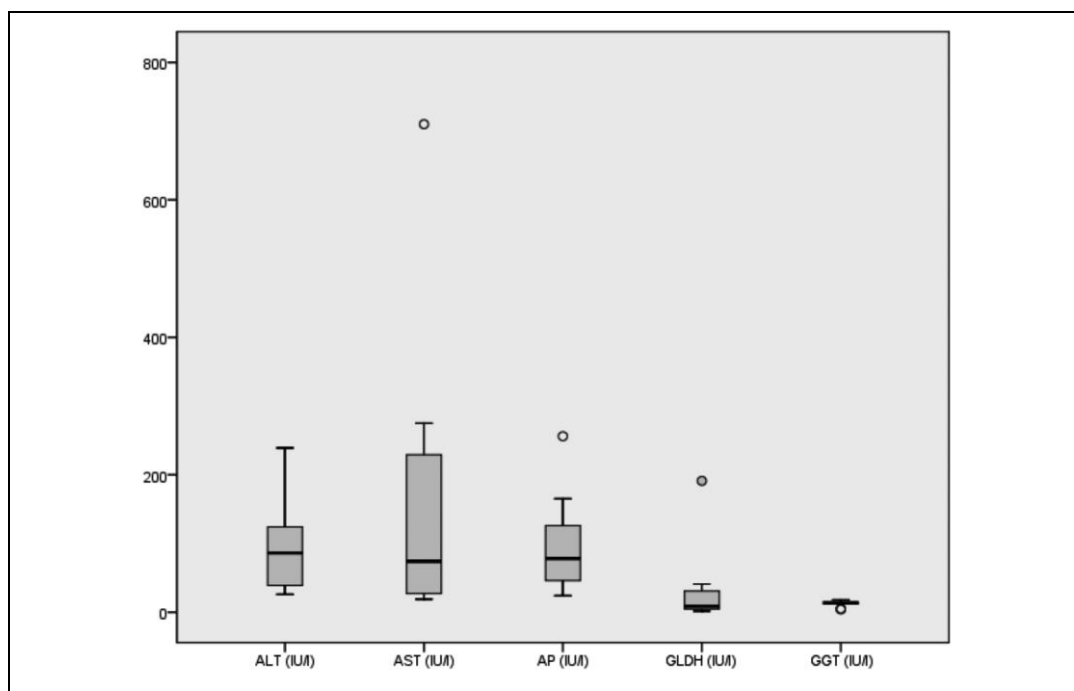


FIGURE 1: Box plot of data of ALT, AST, AP, GLDH, and GGT activity from rabbits ($n = 77$) with hepatopathy (y-axis: IU/l, °: outlier).

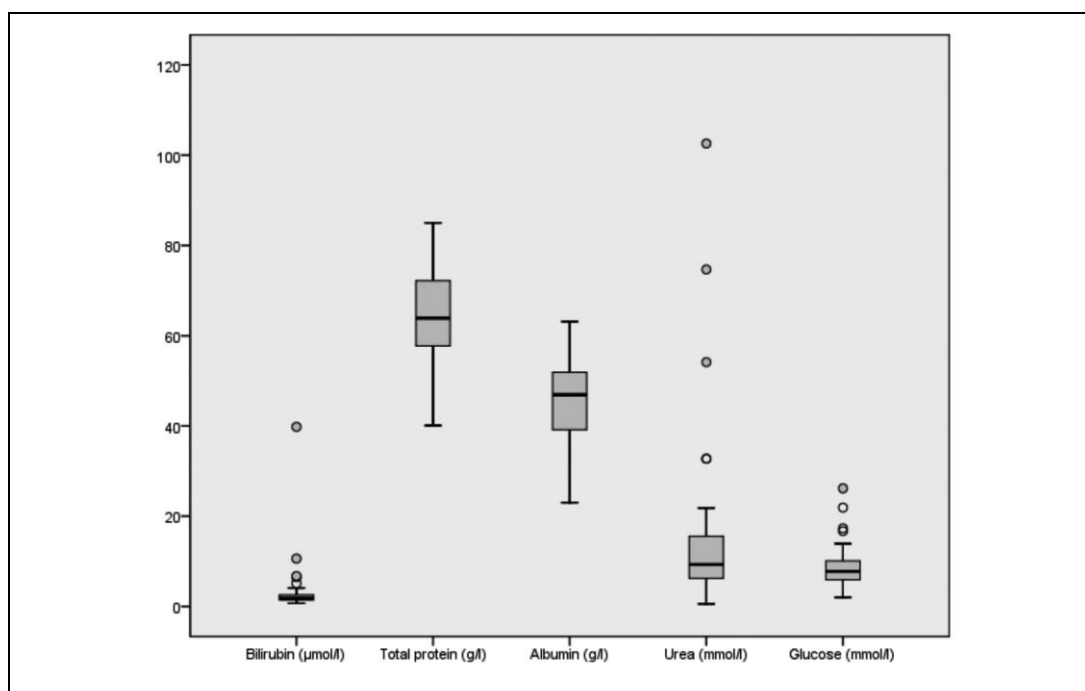


FIGURE 2: Box plot of data of bilirubin, total protein, albumin, urea, and glucose concentration from rabbits ($n = 77$) with hepatopathy (y-axis: total protein and albumin: g/l, urea and glucose: mmol/l, bilirubin: μmol/l, °: outlier).

IV DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurden die Sensitivität und die klinische **Bedeutung von Leberparametern** (ALT, AP, AST, GLDH, γ -GT, Glukose, Albumin, Gesamteiweiß, Bilirubin und Harnstoff) in der Diagnostik von Hepatopathien (Hepatolipidose, Entzündung, Krankheiten des galleabführenden Systems, Neoplasie, Zirrhose, Fibrose, sonstige Leberkrankheiten) bei Kaninchen untersucht. Von 77 Kaninchen mit nachgewiesener Hepatopathie lagen bei 33 Tieren (42,9 %) alle gemessenen Leberparameter im Referenzbereich, bei 44 der Kaninchen (57,1 %) lag mindestens ein Leberparameter außerhalb des Referenzbereiches.

Die Gründe, warum 42,9 % der Tiere dieser Studie trotz Hepatopathie Leberparameter im Normbereich hatten, können vielfältig sein. Nach ROTHUIZEN und MEYER (2000) muss das Vorliegen einer Hepatopathie nicht zwingend eine Veränderung der Leberenzymaktivitäten und der Substratkonzentrationen zur Folge haben. Dies hängt davon ab, wie schwer die Hepatozyten geschädigt worden sind und ob die Leberfunktion durch die Schädigung beeinträchtigt wird (ROTHUIZEN & MEYER, 2000). Die Halbwertszeit eines Enzyms ist in der klinischen Labordiagnostik eine weitere nicht zu vernachlässigende Komponente (ROTHUIZEN & MEYER, 2000). So lagen auch in einer klinischen Studie von GRAHAM und Mitarbeitern (2014) über Leberlappentorsionen bei Kaninchen die gemessenen Aktivitäten einiger Enzyme (AST, AP und ALT) im Referenzbereich. Weiterhin ist zu bedenken, dass die Leber eine große Reservekapazität und Regenerationskraft hat und Enzymaktivitäten nach ausgeheilter Lebererkrankung so schnell wieder sinken können (FAUSTO & WEBBER, 1994). Auch bei chronischen, schweren Hepatopathien im Endstadium können die Leberenzymaktivitäten nur leicht oder gar nicht erhöht sein (ROTHUIZEN & MEYER, 2000). ROTHUIZEN & MEYER (2000) erklärten dies mit fibrotischen Vorgängen und mit der Abnahme der Zahl der neugeschädigten Hepatozyten. HADJIS und Mitarbeiter (1990) untersuchten beispielsweise die Aktivität der AP nach experimenteller Gallengangsobstruktion beim Kaninchen. Sie fanden heraus, dass die Aktivität der AP zwar initial erhöht war, aber mit Atrophie des betroffenen Leberareals wieder in den Normalbereich sank (HADJIS et al., 1990).

Bei den Kaninchen, die für die vorliegende Studie zur Verfügung standen, waren am häufigsten **Hepatolipidosen** diagnostiziert worden ($n = 40/77$; 51,9 %). Dieses Ergebnis lässt sich dadurch erklären, dass beim Kaninchen im Zustand der Anorexie – gleich welcher Ursache – Lipolyse und Fetteinlagerung in die Leberzellen in Gang gesetzt werden (HARCOURT-BROWN, 2002; HEIN, 2009). Die Tiere, die Eingang in die vorliegende Studie fanden, waren alle in der Sprechstunde krank vorgestellt worden. Es ist davon auszugehen, dass viele Tiere zuvor eine anorektische Phase im Krankheitsverlauf hatten oder zum Zeitpunkt der Vorstellung noch anorektisch waren. Des Weiteren waren die Tiere nachfolgend in ambulanter und stationärer Behandlung Stress ausgesetzt und hatten durch ihre Grunderkrankung gegebenenfalls Schmerzen. Stress und Schmerz haben einen Anstieg der Adrenalin- und Kortisolkonzentration zur Folge, was wiederum eine Freisetzung von Fettsäuren aus den Fettdepots induziert (HERMANN, 1999). Gemäß der Untersuchung von LAFONTANE (1981) lösten Stress und Schmerz vor allem bei übergewichtigen Kaninchen (JEAN-BLAIN & DURIX, 1985; HARCOURT-BROWN, 2002) eine gesteigerte Fettsäurefreisetzung aus.

Bei Auswertung der Enzymaktivitätsanstiege bei Hepatopathien (Tabelle 1a und b) fällt auf, dass 50 % der GLDH-Aktivitäten (12/24) bei Tieren mit Hepatolipidose in dieser Studie oberhalb des Referenzbereiches lagen. Ein Anstieg der Aktivität der GLDH kann laut HEIN (2009) häufig im Frühstadium einer Hepatopathie beobachtet werden und für eine beginnende Leberlipidose sprechen. Allein die monolokuläre, mitochondriale Lage, vor allem im zentrilobulären Bereich (KRAFT et al., 2005), lässt die GLDH empfindlich auf Zellnekrose und auch sekundäre Hepatopathien reagieren.

Die AST-Aktivität war bei 10 von 13 Kaninchen (76,9 %) mit Hepatolipidose erhöht. Die bilokulär im Zytoplasma und in den Mitochondrien vorkommende AST (FISCHER, 1977; KRAFT et al., 2005) gilt beim Kaninchen als nicht organspezifisch (CLAMPITT & HART, 1978; HOFFMANN et al., 1989; KRAFT et al., 2005), ist aber ein empfindlicher Indikator für einen allgemeinen Gewebeschaden (HOFFMANN et al., 1989).

Eine **Hepatitis** wurde im Rahmen dieser Studie in 35 Fällen nachgewiesen ($n = 35/77$; 45,5 %). Dieser hohe Prozentsatz lässt sich dadurch erklären, dass eine Hepatitis verschiedenste Ursachen haben kann und auf belebte und unbelebte

Noxen sowie auf autoimmune Prozesse zurückgehen kann (SAUNDERS & DAVIES, 2005; MUNDHENK & WOHLSEIN, 2015). Viele Hepatitiden bleiben klinisch oft unerkannt, wenn die ursächliche Noxe frühzeitig ausgeschaltet wurde oder die klinischen Symptome unspezifisch sind. Die Diagnosen wurden in der vorliegenden Studie jedoch nach pathohistologischen, nicht nach klinischen Befunden gestellt, so dass ein entsprechend hoher Anteil an Kaninchen mit Hepatitis zu erwarten war. Neben den erwähnten Noxen und den autoimmunen Prozessen werden auch Behandlungen mit Glukokortikoiden bei der Entstehung einer Hepatitis bei Kaninchen diskutiert (METECHKINA & MISHUNINA, 1977; TENNANT & BALAZS, 1981; JENKINS, 2000). Zumal im Patientengut der vorliegenden Studie auch Tiere waren, die wegen klinisch manifester Enzephalitozoonose behandelt wurden, ist es möglich, dass einige Tiere mit Glukokortikoiden behandelt worden waren, was sekundär eine Hepatitis ausgelöst haben könnte.

Die GLDH-Aktivität war in dieser Studie in 29,2 % der Fälle mit Hepatitis (Tabelle 1 a und b) erhöht. Hepatitiden können durch vielerlei Noxen entstehen. Sie können durch primäre Infektionen hervorgerufen werden (Trauma, Fremdkörper) oder durch sekundäre Infektion erfolgen (hämatogen, retrograd cholangiogen) (MUNDHENK & WOHLSEIN, 2015). Die GLDH kann durch ihre Leberspezifität und ihre monolokuläre Lage mit besonders hohen Aktivitäten im zentrilobulären Bereich der Hepatozyten sehr auf Noxen reagieren (KRAFT et al., 2005). Auch JOYNER und Mitarbeiter (1983) beobachteten einen signifikant früheren Anstieg der GLDH-Aktivität im Vergleich zur γ -GT-Aktivität bei Untersuchungen zum Verlauf der Leberkokzidiose bei Kaninchen.

Die ALT-Aktivität in dieser Studie lag in 9 von 34 Fällen (26,5 %) mit Hepatitis oberhalb des Referenzbereiches, die AST-Aktivität in 2 von 5 Fällen (40,0 %). Nach Kontakt mit Toxinen und nach Infektion mit *Clostridium piliforme* ist eine Erhöhung der Aktivitäten der ALT und der AST beschrieben, die auf die hepatozelluläre Schädigung zurückzuführen ist (SAUNDERS & DAVIES, 2005). FERREIRA und Mitarbeiter (2006) untersuchten die ALT- und AST-Aktivitäten und die Bilirubinkonzentrationen bei Kaninchen nach experimenteller Calicivirus-Infektion und konnten ebenfalls eine Aktivitätserhöhung dieser Parameter feststellen.

In der Gruppe der Tiere mit **Krankheiten des Gallengangsystems** (n = 13/77; 16,9 %) wurden folgende Diagnosen gestellt: Gallengangskokzidiose, Gallengangsproliferation, Cholangitis und bei einem Kaninchen ein Gallengangsadenom. Die Kokzidiose (n = 2) trat in der vorliegenden Untersuchung wahrscheinlich so selten auf, weil diese Erkrankung eher in großen Zuchtbetrieben und in geschlossenen Tierpopulationen vorkommt (HARCOURT-BROWN, 2002). Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden aber hauptsächlich Tiere aus privaten Kleinhaltungen vorgestellt. In großen Beständen ist der Infektionsdruck zum einen höher, zum anderen werden meist nur Jungtiere gehalten. Insbesondere bei Jungtieren verläuft die Gallengangskokzidiose schwer und kann tödlich enden (SINGLA et al., 2000). Die geringe Anzahl an Kokzidiosefällen in dieser Studie lässt sich zudem dadurch erklären, dass Tiere mit milden Verlaufsformen nicht erfasst wurden, sondern ausschließlich Daten von Tieren mit eindeutigen pathohistologischen und/oder zytologischen Leberbefunden in die Studie eingingen.

Neoplastische Veränderungen am Gallengangsystem waren in der vorliegenden Studie nur einmal vertreten. In einer Aufstellung über Neoplasien bei Kaninchen von WEISBROTH (1994) kamen Gallengangstumoren im Vergleich zu Tumoren anderer Organe, wie dem Uterus, nur sporadisch vor. OGLESBEE und JENKINS (2012) beschrieben das Auftreten von Gallengangstumoren ebenfalls als selten.

In dieser Studie war die ALT-Aktivität in 2 von 12 Fällen mit Erkrankungen des Gallengangsystems (16,7 %) erhöht, die GLDH-Aktivität in 3 von 10 Fällen (30,0 %). Die γ -GT wurde in dieser Gruppe nur in 3 Fällen bestimmt, ihre Aktivität war hierbei jedoch zweimal erhöht. Die Bilirubinkonzentration war in 4 von 11 Fällen mit Erkrankungen des Gallengangsystems erhöht (36,4 %). Auch SAUNDERS und DAVIES (2005) berichten, dass eine Obstruktion eines Gallengangs, aufgrund von neoplastischen Veränderungen oder wegen einer Gallengangskokzidiose, zu einer Aktivitätserhöhung unter anderem der AST, der ALT und der γ -GT sowie zu einer Konzentrationserhöhung des Bilirubins führen kann (SAUNDERS & DAVIES, 2005).

In der Literatur fehlen Angaben zu auf natürlichem Wege an einer **Leberfibrose** erkrankten Tieren. In der Vergangenheit basierten die Studienergebnisse lediglich auf experimentell induzierten Fibrosen beim Kaninchen (SINHA & SARAN, 1972; MASTAI et al., 1996; WANLESS et al., 1996). In der vorliegenden Studie

konnte eine Leberfibrose in 9 Fällen ($n = 9/77$; 11,7 %) pathohistologisch nachgewiesen werden. Dabei lagen unterschiedliche Verteilungsmuster bei den Befunden vor. Auffällig war, dass in 5 von diesen 9 Fällen eine Proliferation der Gallengänge und eine Hepatitis/Cholangiohepatitis ein Nebebefund war. In einem Fall konnte pathohistologisch eine Infektion mit *E. stiedae* nachgewiesen werden. Die auftretenden entzündlichen Vorgänge bei Leberfibrose lassen sich dadurch erklären, dass die Fibrose und deren Reparationszustände kein Endstadium einer Lebererkrankung sind, sondern zusammen mit inflammatorischen und nekrotischen Vorgängen ein Bestandteil der zirrhotischen Vorgänge im Lebergewebe sein können (MUNDHENK & WOHLSEIN, 2014). MASTAI und Mitarbeiter (1996) sowie WANLESS und Mitarbeiter (1996) stellten bei Induktion von fibrotischen Vorgängen eine signifikante Erhöhung der Aktivitäten von AST und ALT fest, MASTAI und Mitarbeiter (1996) zusätzlich eine Erhöhung der Bilirubinkonzentration. Außerdem vermerkten die letztgenannten Autoren einen milden Abfall der Glukose- und Albuminkonzentration. In der vorliegenden Studie wurde bei 7 Tieren mit Leberfibrose (7/9) die Aktivität der ALT gemessen, sechsmal davon befand sich ihre Aktivität im Referenzbereich, bei einem Tier wurde jedoch die höchste ALT-Aktivität in der gesamten Studie gemessen (1591 IU/l).

Einen Abfall der Glukose- oder Albuminkonzentration gab es in der Gruppe der 9 Kaninchen mit Fibrose in 2 Fällen und in einem Fall. Die Leber als Ort des Kohlenhydratstoffwechsels und der Albuminsynthese kann bei chronischer Erkrankung in ihrer Funktion eingeschränkt sein, was diese Konzentrationsabfälle erklärt (ALLISON, 2012).

Eine **Neoplasie** wurde in der vorliegenden Studie in 5 Fällen ($n = 5/77$; 6,5 %) nachgewiesen. In 2 der Fälle handelte es sich um Lebermetastasen, die von einem Adenokarzinom ausgingen, in einem weiteren Fall um ein Adenokarzinom als Primärtumor, in einem anderen Fall um ein Lymphom und in dem letzten Fall um ein Gallengangsadenom. Dies deckt sich mit den Angaben eines Reviewartikels (WEISBROTH, 1994), in dem eine Reihe von Studien aufgelistet wird, die Kaninchen bezüglich des Auftretens von Tumoren beleuchteten. Der Autor schrieb, dass am häufigsten Metastasen und cholangiozelluläre Adenome sowie Karzinome diagnostiziert wurden (WEISBROTH, 1994). Die Fallzahl in der vorliegenden Studie ist zu gering, um eine allgemeingültige Aussage über die

Häufigkeit des Vorkommens von Neoplasien bei Kaninchen machen zu können. In einer experimentellen Studie von REZNIK und PADBERG (1990) wurde eine Tumorinduktion durch Diethylnitrosamin an 11 Tieren durchgeführt. Dabei entstanden hauptsächlich hepatozelluläre Karzinome ($n = 9$) und nur ein hepatozelluläres Adenom. Interessanterweise kam es erst zu einer signifikanten Erhöhung der Leberparameter (ALT, AST) sowie der Harnstoff- und Gesamteiweißkonzentration, wenn bereits schwere Organschäden durch die Neoplasie vorlagen. REZNIK und PADBERG (1990) führte dies zu dem Schluss, dass die Bestimmung dieser Parameter keine Bedeutung für die Frühdiagnose von Lebertumoren hat. In der vorliegenden Studie war in der Gruppe mit Neoplasie in 1 von 5 Fällen die ALT-Aktivität erhöht, die AST wurde in keinem Fall bestimmt. Die Albuminkonzentration war in 2 von 4 Fällen mit Neoplasie unterhalb des Referenzbereiches.

Leberzirrhosen wurden in dieser Studie nur in 4 Fällen ($n = 4/77$; 5,2 %) diagnostiziert. Die Leberzirrhose stellt keine eigenständige Krankheit dar (MUNDHENK & WOHLSEIN, 2015), sondern vielmehr den Endzustand vieler chronischer, selbsterhaltender Prozesse von Reparation, Degeneration und Entzündung. Daher war die Wahrscheinlichkeit, eine Zirrhose unter klinischen Bedingungen zu diagnostizieren, gering. In der Literatur existieren nur Studien über Kaninchen, die experimentell induziert an einer Zirrhose litten (SHIGA & MORI, 1985; TSUKAMOTO et al., 1990; MASTAI et al., 1996; WANLESS et al., 1996; BRANDAO et al., 2000). In diesen Studien wird die Leber als Zirrhose- und/oder Fibrosemodell untersucht. Induziert wurden die Zirrhosen mit Carbontetrachlorid oder Endotoxinen (SHIGA & MORI, 1985; TSUKAMOTO et al., 1990; MASTAI et al., 1996; WANLESS et al., 1996; BRANDAO et al., 2000). Dabei verwendeten BRANDAO und Mitarbeiter (2000) die Aktivitätshöhe der ALT und AST zum Steuern der Carbontetrachloriddosierung. ALT- und AST-Aktivität stiegen parallel zur γ -GT-Aktivität und der Bilirubinkonzentration an. Die Albumin- und Gesamteiweißkonzentrationen blieben dabei unverändert (BRANDAO et al., 2000). Schon 1972 hatten SINHA und SARAN (1972) versucht zu ermitteln, ob die Aktivitätshöhe der ALT und der AST mit dem durch Carbontetrachloridlösung hervorgerufenen, hepatozellulären Schaden korreliert, und sprachen der ALT hierbei eine größere Bedeutung zu. In der vorliegenden Studie war zu beobachten, dass die Aktivität der ALT in 3 der 4 Fälle mit Zirrhose

im Referenzbereich lag, im 4. Fall wurde der Parameter nicht bestimmt. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Leberzirrhose zum Zeitpunkt der Blutabnahme inaktiv war. Bei Vorliegen nekroinflammatorischer Vorgänge kann von einer aktiven Zirrhose ausgegangen werden; bei überwiegender Fibrose handelt es sich um eine inaktive Zirrhose (HERMANN, 1999). Die reaktive und reparative Reaktion der Leber auf viele Noxen ist die Kollagensynthese, für die perisinusoidale Ito-Zellen verantwortlich sind. Diese Reparationsvorgänge (Fibrose) sind ein Teil der zirrhotischen Vorgänge in der Leber. Es kommt je nach Lage und Verteilungsmuster zu einer Beeinflussung der Leberfunktion (MUNDHENK & WOHLSEIN, 2015). Bei einem Kaninchen mit Leberzirrhose und -fibrose konnte in der vorliegenden Studie eine Aktivitätserhöhung der leberspezifischen γ -GT (SAUNDERS & DAVIES, 2005) von 303 IU/l mit gleichzeitiger Erniedrigung der Glukose- und Albuminkonzentration nachgewiesen werden. Eine signifikante Erhöhung der γ -GT-Aktivität bei induzierter Zirrhose konnten ebenso BRANDAO und Mitarbeiter (2000) messen. MASTAI und Mitarbeiter (1996) stellten bei Induktion einer Fibrose einen Abfall der Albumin- und Glukosekonzentration fest.

Eine ALT-Aktivitätserhöhung konnte bei 22 von 70 Kaninchen (31,4 %) verzeichnet werden. Am häufigsten traten Aktivitätserhöhungen bei der Lipidose (10/40) und bei der Hepatitis (9/35) auf. Die höchste Aktivität (26-facher oberer Referenzwert) wurde bei einem Kaninchen mit Fibrose gemessen. In den Diagnosegruppen Neoplasie (1/5), Fibrose (1/9) und Zirrhose (0/4) war die Aktivität in insgesamt nur 2 Fällen erhöht. Signifikante ALT-Aktivitätserhöhungen sind in der Literatur bei Kaninchen lediglich nach experimentellen Infektionen mit *E. stiedae* (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993), *Capillaria hepatica* (WINKELMANN, 1974), Mischinfektion mit *E. pellerdyi* und *Escherichia coli* (RAGNITZ, 1993) sowie nach Mykotoxinbelastung durch Aflatoxine (FEKETE & HUSZENICZA, 1993) belegt. Weiterhin finden sich Angaben zu signifikanten ALT-Aktivitätsanstiegen bei Kaninchen nach induzierter Fibrose (MASTAI et al., 1996), induzierter Zirrhose (BRANDAO et al., 2000) und nach induzierter Neoplasie (REZNIK & PADBERG, 1991). Bei diesen Literaturangaben handelt es sich jedoch um experimentelle Studien, in denen unter standardisierten Bedingungen, also zu definierten Zeitpunkten und unter Berücksichtigung von Halbwertszeiten und Krankheitsverlauf, die

Enzymaktivitäten gemessen werden konnten. Somit ist der Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie nicht zielführend. Schon 1972 diskutierten SINHA und SARAN, ob die Aktivitätshöhe der ALT und AST mit dem durch Carbontetrachloridlösung hervorgerufenen hepatozellulären Schaden korreliert. Sie stellten fest, dass nach Induktion einer Leberzirrhose mit dieser Lösung zwar eine Aktivitätserhöhung der ALT zu verzeichnen war, diese jedoch wieder innerhalb von vier Tagen in den Referenzbereich sank – vermutlich bedingt durch die Regenerationskraft der Leber. In der vorliegenden Studie lagen die Aktivitäten der ALT in 3 nachgewiesenen Fällen (3/4) von Zirrhose im Referenzbereich. Erklärungen dafür könnten sein, dass die Zirrhose zum Zeitpunkt der Blutabnahme nicht aktiv war oder die kurze Halbwertszeit von 5,1 Stunden (BOGIN et al., 1977) einen Einfluss auf die Ergebnisse hatte. In der vorliegenden Studie konnten für die Sensitivität der ALT bei Kaninchen mit Lipidose und Hepatitis Werte über 80 % errechnet werden. Noch höher, aber begleitet von weiten Konfidenzintervallen, fielen die Sensitivitäten für die Gruppe der Neoplasie und die der Fibrose aus. Die ermittelten Konfidenzintervalle in der vorliegenden Studie sind insgesamt tendenziell weit, weil die Anzahl der Tiere in den einzelnen Diagnosegruppen nur klein war. Daher müssen die ermittelten Sensitivitäten in dieser Studie vorsichtig interpretiert werden. Statistisch signifikante Erhöhungen der ALT-Aktivität wurden bei Kaninchen mit Kokzidiose (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993) sowie bei Leberlappentorsion (FITZGERALD & FITZGERALD, 1992; WENGER et al., 2009; STANKE et al., 2011; GRAHAM et al., 2014) und Zirrhose (BRANDAO et al., 2000) beschrieben. In der aktuellen Studie gab es 2 Fälle von Kokzidiose. In einem Fall konnte eine Erhöhung der ALT-Aktivität festgestellt werden. Der zweite Fall (1/2) zeigte eine ALT-Aktivität im Referenzbereich. Das Ausmaß des hepatozellulären Schadens war hierbei wahrscheinlich gering.

Die Analyse in der vorliegenden Studie zeigte eine signifikante ($p < 0,01$) und sehr gute Korrelation ($r \geq 0,9$) zwischen den Aktivitäten der ALT und AST sowie zwischen den Aktivitäten der ALT und γ -GT. Für die Paarung ALT/Bilirubin und ALT/GLDH war ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,01$) mit guter Korrelation ($r \geq 0,7$) nachweisbar. Korrelationsanalysen fehlten bis jetzt in der Literatur. Beschrieben sind allenfalls gemeinsame Anstiege der ALT-Aktivität mit der der AST und γ -GT sowie der Konzentration des Bilirubins in Zusammenhang

mit der Leberkokzidiose (HEIN, 1977; MATHES & RAGNITZ, 1999; HARCOURT-BROWN, 2002). Ein paralleler Anstieg der ALT- und AST-Aktivität wurde auch bei der Zirrhose (BRANDAO et al., 2000), bei der Fibrose (MASTAI et al., 1996), der RHD (FERREIRA et al., 2006) sowie bei einer *Capillaria-hepatica*-Infektion (WINKELMANN, 1974) erwähnt. Auch wenn die ALT als gering leberspezifisch gilt (CLAMPITT & HART, 1978; BOYD, 1983), ist die hohe Korrelation zwischen der ALT und der AST bei Aktivitätserhöhungen durch die gemeinsame, zytoplasmatische Lokalisation und die gemeinsame Freisetzung bei schon geringgradiger Leberzellschädigung zu erklären. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in der vorliegenden Studie die ALT-Aktivitäten in ungefähr einem Drittel der Hepatopathiefälle erhöht waren und positive, signifikante Korrelationen zu AST-, γ -GT- und GLDH-Aktivität sowie der Bilirubinkonzentration bestehen. Die ALT scheint somit ein geeigneter Parameter für die Leberdiagnostik des Kaninchens zu sein.

In der vorliegenden Studie war die Aktivität der **AST** insgesamt in 14 von 20 (14/20; 70,0 %) Kaninchen mit einer Hepatopathie erhöht. Davon lag bei 10 von 13 Kaninchen mit Hepatolipidose die Aktivität der AST über dem Referenzbereich (n=10/13; 76,9 %). Die AST ist beim Kaninchen nicht leberspezifisch (CLAMPITT & HART, 1978; HOFFMANN et al., 1989; KRAFT et al., 2005; SAUNDERS & DAVIES, 2005), weil sie in unterschiedlichen Geweben vorkommt (CLAMPITT & HART, 1978; KELLER, 1979; BENSON & PAUL-MURPHY, 1999). Der in der vorliegenden Studie relativ hohe Anteil von AST-Aktivitätserhöhungen lässt sich dadurch erklären, dass die AST durch ihre bilokuläre Lage (im Zytoplasma und in den Mitochondrien) (FISCHER, 1977; KRAFT et al., 2005) und die hohen Gewebeaktivitäten ein empfindlicher Indikator für Gewebeschäden ist (HOFFMANN et al., 1989). HARCOURT-BROWN (2002) beschrieb, dass bei Kaninchen erhöhte Muskelaktivitäten oder Gewebeschäden bei der Blutabnahme schon zu einer Erhöhung der AST-Enzymaktivität führen können. Somit ist auch denkbar, dass Tiere bei Gewebeverletzung im Rahmen der Blutabnahme, aber auch durch Bewegung beim Einfangen oder beim Drehen um die Längsachse bei klinisch manifester Enzephalitozoonose eine Erhöhung der AST-Aktivität aufweisen. In der vorliegenden Studie hatten 5 von 14 Kaninchen mit erhöhter AST-Aktivität einen entsprechenden Vorbericht, der mit einer vermehrten Muskelaktivität einherging

(5 Fälle mit Encephalitozoonose). Kranke Kaninchen mit *Encephalitozoon cuniculi*-Infektion zeigten auch nach einer Studie von EWRINGMANN und GOEBEL (1999) unter anderem eine Erhöhung der AST-Aktivitäten. Die Bestimmung der Aktivität der Kreatinkinase (CK), die als Indikator für Skelettmuskelschäden zusätzlich Aufschluss über den Grund einer AST-Aktivitätserhöhung geben könnte (SAUNDERS & DAVIES, 2005), wurde in dieser retrospektiven Studie nicht untersucht. Neben Schädigung der Muskulatur können des Weiteren *In-vivo*- und *In-vitro*-Hämolysen oder auch Enteritiden Grund für eine AST-Aktivitätserhöhung sein (GASCON & VERD, 1985; HEIN, 2002; NEUMANN, 2014).

Die Sensitivität der AST war in dieser Studie für Kaninchen mit Hepatitis, Fibrose und Erkrankungen des Gallengangsystems hoch, die Konfidenzintervalle waren jedoch, aufgrund der geringen Tierzahlen, sehr weit, so dass diese Ergebnisse vorsichtig zu interpretieren sind. Die höchste AST-Aktivität (138-facher oberer Referenzwert) wurde bei einem Kaninchen mit Hepatolipidose und akuter Lebernekrose und Hepatitis gemessen. Angaben zur Sensitivität der AST-Aktivität für bestimmte Hepatopathien fehlen in der Literatur. Publiziert wurden lediglich Berichte über AST-Aktivitätserhöhungen bei Kaninchen mit experimentell induzierter Gallengangskokzidiose (HEIN, 1977; GOMEZ-BAUTISTA et al., 1987, ABDEL-GHAFFAR et al., 1990; RAGNITZ, 1993; MATHES & RAGNITZ, 1999), experimenteller Infektion mit *E. coecicola* (AL-QURAISHY et al., 2012), Zirrhose (BRANDAO et al., 2000), Fibrose (MASTAI et al., 1996; WANLESS et al., 1996) sowie Leberlappentorsion (WENGER et al., 2009; GRAHAM et al., 2014) und bei Encephalitozoonose (EWRINGMANN & GOEBEL, 1999).

Parallele Anstiege der AST-Aktivität mit der ALT und γ -GT sowie der Konzentration des Bilirubins wurden in Zusammenhang mit Leberkokzidiose beschrieben (HEIN, 1977; MATHES & RAGNITZ, 1999; HARCOURT-BROWN, 2002). Ein gemeinsamer Anstieg von ALT- und AST-Aktivität wurde auch bei Zirrhose (BRANDAO et al., 2000), Fibrose (MASTAI et al., 1996), RHD (FERREIRA et al., 2006) und *Capillaria-hepatica*-Infektion (WINKELMANN, 1974) erwähnt. Angaben zu Korrelationen fehlen jedoch auch hier in der Literatur.

Zusammengefasst wiesen die Ergebnisse der vorliegenden Studie und der Literaturrecherche darauf hin, dass die AST-Aktivität ein empfindlicher Parameter für die Diagnostik von Leberkrankheiten ist und AST-Aktivitätserhöhungen mit der Veränderung anderer Leberparameter korrelieren. Die Interpretation einer AST-Aktivitätserhöhung sollte jedoch nicht erfolgen, ohne die möglichen anderen Ursachen wie Schädigung der Muskulatur oder anderer Gewebe sowie Hämolyse in Betracht zu ziehen.

Eine **AP**-Aktivitätserhöhung wurde in der vorliegenden Studie in keinem der 35 Fälle ($n = 0/35$; 0 %) mit Hepatopathie und gemessener AP-Aktivität verzeichnet. Zudem war die AP der einzige Parameter in dieser Studie, der keine signifikante Korrelation mit einem der anderen Parameter aufweisen konnte. Selbst bei den 5 Kaninchen mit Krankheiten des Gallengangsystems wurde keine Aktivitätserhöhung dieses Enzyms festgestellt, obwohl einige Autoren der AP eine gewisse Indikatorfunktion für hepatozelluläre Obstruktion und Cholestase auch bei Kaninchen zusprechen (BOYD, 1983; JENKINS, 2000; MEREDITH & RAYMENT, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005). Die Ergebnisse der aktuellen Studie untermauern vielmehr die Aussagen von CLAMPITT und HART (1978), die die AP aufgrund der Gewebeverteilung zu den leberunspezifischen Enzymen zählen, sowie den Aussagen von HEIN und LÄMMLER (1978) sowie HEIN (2009), die den diagnostischen Nutzen dieses Enzyms bei Kaninchen infrage stellten.

Die zellmembrangebundene AP kommt in fast allen Geweben vor und ist somit nicht organspezifisch. Bei vielen Tierarten, z. B. bei Hunden und Katzen, liefert sie dennoch, durch ihre Lage vor allem in kanikulären Hepatozyten, gute Dienste als Marker für obstruktive Cholestasen und medikamentöse Enzyminduktion (Glukokortikoide, Phenobarbital) (WILLARD & TWEDT, 2006). Zudem wird die AP als verlässlicher Indikator für die Schädigungen von Leberzellen und Gallengängen beschrieben (KRAFT et al., 2005).

Rein rechnerisch hatte die AP-Aktivität in der vorliegenden Studie eine hohe diagnostische Sensitivität für Kaninchen mit Hepatitis, Neoplasie und Leberzirrhose. Allerdings befinden sich einerseits die errechneten optimalen Cut-off-Werte jeweils innerhalb des Referenzbereiches, andererseits sind die zugehörigen Konfidenzintervalle für die Sensitivität aufgrund der kleinen

Tierzahlen sehr breit, weshalb im Fall der vorliegenden Studie dieser Parameter diagnostisch nicht geeignet erscheint.

Die AP des Kaninchens ist leberunspezifisch und kommt neben der Leber hauptsächlich in Dünndarmzellen, Osteoblasten und renalen Tubuluszellen vor (CLAMPITT & HART 1978; HOFMANN et al., 1989). In manchen Literaturquellen wird der AP eine Bedeutung als Indikatorenzym für hepatobiliäre Obstruktionen und Gallenstau (BOYD, 1983; JENKINS, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005), weniger für Leberzelluntergang (EWRINGMANN & GÖBEL, 2005), zugesprochen. Die AP zeigte jedoch nach experimenteller Infektion mit *E. stiedae* in verschiedenen Studien keine signifikanten Aktivitätserhöhungen (HEIN, 1977; HEIN & LÄMMLER, 1978; MATHES & RAGNITZ, 1988; ABDEL-GHAFFAR et al., 1989). Beispielsweise nach operativer Ligierung des Hauptgallengangs waren in einer Studie von HADJIS und Mitarbeitern (1990) alle gemessenen AP-Aktivitäten im Referenzbereich, in einer Studie von ADJAROV und Mitarbeitern (1976) hingegen kam es nach einer solchen Ligierung zu einer deutlichen AP-Aktivitätserhöhung, in einer Studie von GOMEZ-BAUTISTA und Mitarbeitern (1987) sogar bis zu einer AP-Aktivität von 600 IU/l. Allerdings handelte es sich in der Studie von GOMEZ-BAUTISTA und Mitarbeitern (1987) um zwei vier Monate alte Kaninchen, die physiologischerweise, allein schon aufgrund der Altersabhängigkeit der AP, erhöhte Aktivitäten aufwiesen (FISCHER, 1977; FOX, 1989; RAGNITZ, 1993).

Korrelationsanalysen zwischen der AP und den übrigen Leberparametern wurden in einer Studie von RAGNITZ (1993) an einer Gruppe von 14 gesunden Kaninchen durchgeführt. Hier korrelierte die AP mit der γ -GT signifikant.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Aktivität der AP bei Kaninchen mit nachgewiesener Hepatopathie gewöhnlich nicht ansteigt und keine ausreichende diagnostische Sensitivität besitzt. Dieser Parameter scheint somit nicht geeignet zu sein, um bei Kaninchen Hepatopathien zu diagnostizieren.

Eine Erhöhung der γ -GT-Aktivität war in der vorliegenden Studie in allen Diagnosegruppen nachweisbar, allerdings war die Anzahl der Messungen gering. Nur von 14 Kaninchen lag eine γ -GT-Aktivitätsmessung vor. Von diesen Kaninchen wurde bei 6 Tieren ($n = 6/14$; 42,9 %) eine erhöhte γ -GT-Aktivität festgestellt. Die höchste γ -GT-Aktivität konnte in dieser Studie bei einem

Kaninchen (1/14) mit Leberzirrhose und -fibrose gemessen werden. Die Aktivität lag beim 23-fachen des oberen Referenzwertes (HEIN & HARTMANN, 2003). Die γ -GT ist ein zellmembrangebundenes Enzym und vor allem in den Gallengängen lokalisiert, weshalb sie als leberspezifisch (KRAFT et al., 2005), wenn auch als unempfindlich und reaktionsträge gilt (SAUNDERS & DAVIES 2005; HEIN, 2009). Bei dem erwähnten Tier mit der höchsten γ -GT-Aktivität in dieser Studie handelte es sich um ein Kaninchen mit Zirrhose, dilatierten Gallengängen und pericholangiärer Fibrose, also um ein Tier mit chronischer Veränderung der Gallengänge, was die γ -GT-Aktivitätserhöhung in dieser Höhe begründet. Von vielen Autoren wird die γ -GT als Indikator für posthepatische Obstruktionen beschrieben (CLAMPITT & HART, 1978; MC LAUGHLIN & FISH, 1997; MEREDITH & RAYMONT, 2000; SAUNDERS & DAVIES, 2005; CAMPBELL, 2012). In der vorliegenden Studie war die diagnostische Sensitivität für Kaninchen mit Hepatolipidose, Zirrhose, Fibrose und Neoplasie hoch, jedoch begleitet von weiten Konfidenzintervallen. Signifikante Aktivitätserhöhungen sind bei Kaninchen mit experimentell induzierter Zirrhose (BRANDAO et al., 2000), extrahepatischer Cholestase (ADJAROV et al., 1976) und experimenteller Infektion mit *E. stiedae* und *E. coecicola* (HEIN & LÄMMLER, 1978; MATHES & RAGNITZ, 1999; AL-QUARAISHY et al., 2011) beschrieben. WENGER (2009) hingegen verzeichnete bei zwei Fallstudien von Kaninchen mit Leberlappentorsion nur geringe γ -GT-Aktivitätserhöhungen und JOYNER (1983) sowie GOMEZ-BAUTISTA und Mitarbeiter (1987) wiesen bei Untersuchungen von Kaninchen mit Gallengangskokzidiosen nur mäßige oder keine Aktivitätserhöhungen dieses Enzyms nach. Bei Kaninchen mit Kokzidiose erfolgte keine γ -GT-Aktivitätsmessung, so dass ein Vergleich mit den in der Literatur erwähnten Fällen nicht möglich ist.

Parallele signifikante Aktivitätserhöhungen der γ -GT mit der ALT und der AST (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993; MATHES & RAGNITZ, 1999) sowie mit einer Erhöhung der Bilirubinkonzentration bei hepatobiliärer Obstruktion (ADJAROV et al., 1976; MEREDITH & RAYMENT, 2000) sind beschrieben. Angaben zu Korrelationen finden sich in der Literatur jedoch keine. In der vorliegenden Studie korrelierte die Aktivität der γ -GT positiv signifikant und mit hohem Korrelationsfaktor mit der Bilirubinkonzentration ($r = 0,996$). Dies entspricht den Ergebnissen von ADJAROV und Mitarbeitern (1976) und lässt sich dadurch

erklären, dass beide Parameter eine Beeinträchtigung des Gallengangsystems anzeigen. Zusammenfassend hat das Enzym γ -GT zwar eine diagnostische Bedeutung bei Kaninchen mit Hepatopathie, sollte aber aufgrund seiner Unempfindlichkeit nicht als alleiniger diagnostischer Parameter verwendet werden.

Eine **GLDH**-Aktivitätserhöhung wurde in der vorliegenden Studie bei 20 von 52 Kaninchen ($n = 20/52$; 38,5 %) mit Hepatopathie und vorhandener GLDH-Aktivität verzeichnet. Dabei betrug die höchste gemessene Aktivität das 44-fache des oberen Referenzwertes (HEIN & HARTMANN, 2003). Die höchste Aktivität der GLDH ist beim Kaninchen in der Leber zu finden (CLAMPITT & HART, 1978) und zwar in den Hepatozyten im zentrilobulären Bereich (MOSS et al., 1986; MC LAUGHLIN & FISH 1997). Die GLDH gilt als leberspezifisch (CLAMPITT & HART, 1978; KELLER, 1979; BOYD, 1983). Obwohl diese Umstände vermuten lassen, dass der GLDH eine diagnostische Bedeutung beim Kaninchen in der Literatur zukommen müsste, sind die Aussagen widersprüchlich. So stellten BOYD (1983), MC LAUGHLIN und FISH (1997) sowie CLAMPITT und HART (1978) die Rolle der GLDH als Indikator für hepatozelluläre Schäden infrage, während andere ihre Empfindlichkeit betonten (HEIN & HARTMANN, 2003; KRAFT et al., 2005). Gesicherte Angaben und statistische Kennwerte hierzu fehlen in der Literatur.

In der vorliegenden Studie konnte bei 12 von 24 Kaninchen (50,0 %) mit Hepatolipidose und bei 7 von 17 Kaninchen (29,2 %) mit Hepatitis eine Aktivitätserhöhung der GLDH festgestellt werden. Dies ist vermutlich dadurch begründet, dass es sich bei einer Hepatitis und einer Hepatolipidose meist um akute Geschehen handelt (MUNDHENK & WOHLSEIN, 2015) und so die monolokulär, mitochondrial gelegene GLDH (KRAFT et al., 2005) schnell freigesetzt wird. JOYNER und Mitarbeiter (1983) stellten sogar einen signifikant früheren Anstieg der GLDH-Aktivität gegenüber der γ -GT-Aktivität nach experimenteller Infektion mit *E. stiedae* fest. Es fehlen allerdings Angaben zu klinischen Studien über die GLDH des Kaninchens, so dass ein Vergleich mit den aktuell vorliegenden Ergebnissen nicht möglich ist.

In dieser Studie war die diagnostische Sensitivität der GLDH besonders hoch für Kaninchen mit Fibrose sowie mit Entzündung und Krankheiten des Gallengangsystems. Das Konfidenzintervall war hierbei für Kaninchen mit

Entzündung am kleinsten. Studien zur Gallengangskokzidiose belegten signifikante GLDH-Aktivitätsanstiege im Verlauf experimenteller Infektionen (HEIN, 1977; RAGNITZ, 1993; MATHES & RAGNITZ, 1999). Des Weiteren wurden erhöhte GLDH-Aktivitäten bei Kaninchen beschrieben, die experimentell mit *E. stiedae* infiziert worden waren (HEIN & LÄMMLER, 1978; JOYNER et al., 1983). Die Korrelationsanalyse in der vorliegenden Studie zeigte eine signifikante ($p < 0,01$) und gute Korrelation ($r \geq 0,7$) zwischen den Aktivitäten der GLDH und AST sowie eine mittlere Korrelation ($r \geq 0,5$) zwischen den Aktivitäten der GLDH und ALT.

Zusammenfassend stellt die GLDH ein Enzym dar, das bei Hepatopathien meist schon früh mit Aktivitätsanstiegen reagiert. Die errechneten Sensitivitäten sind aber aufgrund der geringen Tierzahlen nicht verlässlich genug, um die GLDH als alleinigen Indikator für eine Lebererkrankung verwenden zu können. Weitere klinische Studien unter standardisierten Bedingungen und größeren Fallzahlen sind nötig, um die klinische Bedeutung der GLDH endgültig definieren zu können.

Eine **Bilirubin**-Konzentrationserhöhung wurde in der vorliegenden Studie bei 13 von 55 Kaninchen ($n = 13/55$; 23,6 %) festgestellt. Die Konzentrationserhöhungen wurden vor allem bei Kaninchen mit Fibrose ($n = 4/8$), Hepatitis ($n = 6/26$) und Krankheiten des Gallengangs-systems ($n = 4/11$) gemessen. Da diese Erkrankungen die Leberfunktion durch Obstruktion, Cholestase und Zelldegeneration maßgeblich stören und die Bilirubinkonzentration als Indikator für die Funktion des Gallengangs-systems und der Leber gilt (JENKINS, 2000; MEREDITH & RAYMONT, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002), war dieses Ergebnis zu erwarten. Eine Hyperbilirubinämie wurde in der Literatur bei Kaninchen mit Gallengangstumoren (MEREDITH & RAYMENT, 2000) und bei Kaninchen mit experimentell induzierter Fibrose (MASTAI et al., 1996) sowie Zirrhose (BRANDAO et al., 2000) beschrieben. In der Gruppe der Zirrhosen gab es in dieser Studie nur 4 Fälle mit dokumentierter Bilirubinkonzentration, wobei die Konzentration in 2 Fällen ($n = 2/4$; 50,0 %) ebenfalls über dem Referenzbereich lag. Die diagnostische Sensitivität der Bilirubinkonzentration bei Kaninchen mit Lipidose, Hepatitis und Neoplasie war hoch ($> 90,0 \%$). Die engsten Konfidenzintervalle konnten für Kaninchen mit Lipidose und Hepatitis errechnet werden.

Die Korrelationsanalyse in der vorliegenden Studie zeigte eine signifikante ($p < 0,01$) und gute Korrelation ($r \geq 0,7$) zwischen den Bilirubinkonzentrationen und den Aktivitäten der γ -GT sowie eine mittlere Korrelation ($r \geq 0,5$) zwischen den Bilirubinkonzentrationen und den Aktivitäten der ALT und der GLDH. Zudem korrelierten die Bilirubinkonzentrationen signifikant ($p < 0,01$) und negativ mit den Albuminkonzentrationen ($r = -0,386$). Das bedeutet, dass bei zunehmender Funktionsstörung der Leber auch die Syntheseleistung des Albumins verringert ist (ALLISON, 2012).

Im Vergleich zu anderen Parametern steigt die Bilirubinkonzentration zumeist, wenn die hepatozelluläre Funktion gestört ist und sie kann so als Indikator verwendet werden. Da prä- und posthepatische Ursachen die Bilirubinkonzentration wesentlich beeinflussen können, sollte dieser Parameter nur zusammen mit anderen Leberparametern interpretiert werden.

Ein Abfall der **Gesamteiweiß**konzentration (Hypoproteinämie) wurde in der vorliegenden Studie in 23 von 63 Fällen ($n = 23/63$; 17,5 %) festgestellt. Womöglich spielte hierbei der Hydratationszustand der zum Teil schwer und/oder chronisch kranken Tiere eine Rolle und überdeckte somit bestehende Hypoproteinämien durch Dehydratation. Hyperproteinämien sind laut CAMPBELL (2012) beim Kaninchen häufig in Zusammenhang mit Dehydratation zu sehen. Laut HARCOURT-BROWN (2002) können zudem auch chronische und immunmedierte Erkrankungen eine Erhöhung der Gesamteiweißkonzentration bei Kaninchen mit sich bringen.

Am häufigsten konnte der Abfall der Gesamteiweißkonzentration bei Kaninchen mit Hepatolipidose ($n = 8/40$; 21,2 %) verzeichnet werden. In die vorliegende Studie wurden nur eindeutige Hepatolipidosen mit mittel- und hochgradigem Befund eingeschlossen. Bei einer ausgeprägten Hepatolipidose kann die Syntheseleistung von Protein vermutlich gestört sein, weil durch die Lipideinlagerungen in die Leberzelle Zellveränderungen und Zellnekrosen entstehen (MUNDHENK & WOHLSEIN, 2015). In dieser Studie war weiterhin in 2 von 28 Fällen mit Hepatitis (7,1 %) die Gesamteiweißkonzentration erniedrigt. Eine Hypoproteinämie wird in der Literatur bei Kaninchen auch in Zusammenhang mit chronischer Hepatitis, aber auch Kokzidiose, chronischer Enteropathie, Glomerulonephropathie und Unterernährung beschrieben (MC

LAUGHLIN & FISH, 1997; HARCOURT-BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005).

Die diagnostische Sensitivität der Gesamteiweißkonzentration war in der vorliegenden Studie bei Kaninchen mit Fibrose, Zirrhose und Gallengangserkrankungen sehr hoch (100,0 %), allerdings bei weiten Konfidenzintervallen. Aufgrund der geringen Fallzahlen und dem Mangel an Vergleichsliteratur sollten diese Ergebnisse aber vorsichtig interpretiert werden. Die Gesamteiweißkonzentration korrelierte in dieser Studie positiv und signifikant ($p < 0,01$; $r = 0,663$) mit der Albuminkonzentration.

Eine **Hypalbuminämie** wurde in der vorliegenden Studie bei 14 von 66 Kaninchen (14/66; 21,2 %) verzeichnet. Diese wurde besonders bei Kaninchen mit Hepatolipidose festgestellt. Die geringe Anzahl von Hypalbuminämien in dieser Studie lässt sich, wie auch bei der Gesamteiweißkonzentration, mit dem fraglichen Hydratationszustand der schwer und/oder chronisch kranken Tiere erklären. Eine Dehydratation kann beim Kaninchen zu einer relativen Hyperalbuminämie führen (HARCOURT-BROWN & BAKER, 2011).

In dieser Studie gab es in 2 von 4 Fällen mit Neoplasie (50 %) und in 1 von 4 Fällen mit Zirrhose (25,0 %) eine Hypalbuminämie. Dies deckt sich mit der Literatur, in der Hypalbuminämie in Zusammenhang mit schweren oder fortgeschrittenen Hepatopathien beschrieben wird (MEREDITH & RAYMENT, 2000; HARCOURT-BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005; CAMPBELL, 2012).

Die diagnostische Sensitivität der Albuminkonzentration war in der vorliegenden Studie bei Kaninchen mit Neoplasie sehr hoch (100,0 %), allerdings bei weitem Konfidenzintervall. Die diagnostische Sensitivität bei Kaninchen mit Hepatolipidose lag bei 94,1 %, mit engerem Konfidenzintervall. Die diagnostische Sensitivität bei Kaninchen mit Gallengangserkrankungen lag bei 91,0 % mit weitem Konfidenzintervall. Aufgrund der geringen Fallzahlen müssen diese Ergebnisse allerdings mit Vorsicht interpretiert werden.

Neben der oben beschriebenen und logischen Korrelation mit den Gesamteiweißkonzentrationen ließ sich in dieser Studie eine negative, niedrige ($r = -0,386$) und signifikante ($p < 0,01$) Korrelation mit den Bilirubinkonzentrationen und eine niedrige ($r = 0,371$) und signifikante ($p < 0,01$) Korrelation mit

der Glukosekonzentration verzeichnen. Bei zunehmender Funktionsstörung der Leber scheint auch die Synthese von Albumin und Glukose verringert (ALLISON, 2012).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Konzentrationen von Albumin und Gesamteiweiß von der Schwere der Leberschädigung beeinflusst werden. Da sie aber auch von vielen anderen Faktoren, wie vom Hydrationszustand und dem Verlust abhängen, sind sie als Indikator für Hepatopathien eher weniger geeignet.

Eine Erniedrigung der **Harnstoff**konzentration wurde in der vorliegenden Studie in nur einem einzigen Fall von 74 ($n = 1/74$; 1,4 %) verzeichnet. Eine erhöhte Harnstoffkonzentration konnte dagegen in 42 von 74 ($n = 42/74$; 56,8 %) der Fälle nachgewiesen werden. Eine erniedrigte Harnstoffkonzentration wird bei Kaninchen in Zusammenhang mit einer gestörten Leberfunktion und in Zusammenhang mit verringerter Proteinaufnahme über die Nahrung beschrieben (MC LAUGHLIN & FISH, 1997; BENSON & PAUL-MURPHY, 1999; HARCOURT-BROWN, 2002). SAITO und HASEGAWA (2003) untersuchten in ihrer Studie 190 Fälle mit erhöhten Harnstoffkonzentrationen. Diese Autoren stellten fest, dass die meisten Harnstoffkonzentrationserhöhungen bei Kaninchen zu finden waren, die eine Vorgeschichte mit gastrointestinalen Problemen (Magen-Darm-Blutungen), Zahnproblemen und erst an dritter Stelle mit einer Lebererkrankung hatten (SAITO & HASEGAWA, 2003). In der vorliegenden Studie ist es denkbar, dass ein gewisser Anteil der Kaninchen eine Nierenfunktionsstörung, z. B. durch eine Enzephalitozoonose, hatte oder durch eine schwere, chronische Erkrankung bedingt anorektisch und dehydriert vorgestellt wurde.

Die diagnostische Sensitivität der Harnstoffkonzentration lag bei Kaninchen mit Gallengangserkrankungen bei 92,3 % mit weitem Konfidenzintervall, bei Kaninchen mit Hepatolipidose bei 92,3 % mit engerem Konfidenzintervall. Die diagnostischen Sensitivitäten für Tiere mit Fibrose und Zirrhose lagen bei 100,0 %, allerdings begleitet von sehr weiten Konfidenzintervallen, bedingt durch die sehr kleinen Tierzahlen in diesen Gruppen. Vergleichsliteratur hierzu fehlt.

Die Korrelationsanalyse in der vorliegenden Studie zeigte nur eine signifikante ($p < 0,01$) und schlechte Korrelation ($r \geq 0,2$) zu den Aktivitäten der GLDH. Auch hierzu sind keine Angaben in der Literatur zu finden.

Eine Erniedrigung der Harnstoffkonzentration sollte bei Kaninchen entsprechend sehr vorsichtig interpretiert werden und extrahepatische Ursachen, die zu einem Harnstoffverlust führen können, sollten ausgeschlossen werden, bevor die Ursache in einer Hepatopathie gesucht wird.

Eine Erniedrigung der Konzentration der **Glukose** im Blut (Hypoglykämie) wurde in der vorliegenden Studie bei 15 von 67 Kaninchen mit Hepatopathie ($n = 15/67$; 22,4 %) nachgewiesen, eine Erhöhung der Glukosekonzentration (Hyperglykämie) in 5 Fällen ($n = 5/67$; 7,5 %). Ein Abfall der Glukosekonzentration im Serum kann auch bei Kaninchen ein Zeichen einer gestörten Leberfunktion und somit einer Bildungsstörung sein, entsteht jedoch auch bei erhöhtem Verbrauch, zum Beispiel bei Sepsis, sowie bei langfristiger Anorexie oder Enteropathie (VETESI & KUTAS, 1974; HARCOURT-BROWN, 2002; SAUNDERS & DAVIES, 2005) und ganz selten (in 1/16 Fällen mit Hypoglykämie) bei Insulinom (HARCOURT-BROWN & HARCOURT-BROWN, 2012). Nach HARCOURT-BROWN & HARCOURT-BROWN (2012) ist Hypoglykämie bei Kaninchen ein sehr seltener Befund. Die Kaninchen dieser Studie waren alle schwer oder chronisch krank. Eine vorberichtliche Anorexie kann in manchen Fällen an einer leichten Erniedrigung der Glukosekonzentration beteiligt gewesen sein.

Erniedrigte Glukosekonzentrationen kamen in dieser Studie in jeder Hepatopathiegruppe vor. Die diagnostischen Sensitivitäten bei Kaninchen mit Fibrose und Neoplasie lagen bei 100,0 % mit sehr weiten Konfidenzintervallen, bei Kaninchen mit Entzündung und Zirrhose bei 70,0 % mit weiten Konfidenzintervallen. Es existiert hierzu keine Vergleichsliteratur.

In der vorliegenden Studie korrelierte die Aktivität der γ -GT negativ signifikant ($r = -0,601$; $p < 0,05$) und mit mittlerem Korrelationsfaktor und die Albuminkonzentration ($r = 0,371$; $p < 0,01$) mit der Glukosekonzentration. Das könnte bedeutet, dass bei zunehmender Funktionsstörung der Leber auch die Synthese der Glukose verringert ist (ALLISON, 2012). In Anbetracht der geringen Fallzahlen sollten diese Ergebnisse aber nicht überinterpretiert werden. Entsprechend kann eine Hypoglykämie Zeichen einer Hepatopathie sein. Extrahepatischen Ursachen sollten aber zunächst ausgeschlossen und die Ergebnisse dann unter Berücksichtigung anderer Leberparameter interpretiert werden.

Als retrospektive Studie hatte diese Studie unvermeidbare, **limitierende Faktoren**. So wurden einige Leberparameter, wie die GLDH und die γ -GT, nur selten bestimmt. Desweiteren gab es in den Diagnosegruppen Fibrose, Zirrhose und Neoplasie nur sehr kleine Fallzahlen. Die klinische Bedeutung einzelner Befunde sollte entsprechend vorsichtig interpretiert werden. Die klinischen Untersuchungen, die diagnostischen Befundungen und die Laboruntersuchungen fanden zwar am gleichen Ort statt, wurden jedoch von unterschiedlichem Personal durchgeführt. Eine weitere Limitation in dieser Studie ist das Fehlen einer gesunden Vergleichsgruppe. Weitere Untersuchungen mit größeren Patientenzahlen und kompletten Blutuntersuchungen wären sinnvoll.

Abschließend kann gesagt werden, dass dies die erste Studie ist, in der retrospektiv Leberparameter von klinisch kranken Kaninchen mit zytologisch und/oder histologisch nachgewiesener Hepatopathie untersucht und in Hinblick auf die diagnostische Aussagekraft ausgewertet wurden. Obwohl keine signifikanten Abhängigkeiten zwischen den Enzymaktivitäten und den verschiedenen Leberkrankheiten ermittelt werden konnten, zeigte die Studie, dass AST, GLDH, ALT und GGT im Gegensatz zur AP beim Kaninchen geeignete Leberparameter darstellen, um Hepatopathien zu diagnostizieren. Weiterführende klinische Studien mit größeren Fallzahlen, standardisierten Blutabnahmeprotokollen und gesunden Kontrollgruppen wären wünschenswert.

V ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Studie war die retrospektive Untersuchung von Sensitivität und klinischer Bedeutung folgender Leberparameter in der Diagnostik von Hepatopathien (Hepatolipidose, Entzündung, Krankheiten des galleabführenden Systems, Neoplasie, Zirrhose, Fibrose, sonstige Leberkrankheiten) beim Kaninchen: Alaninaminotransferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), Aspartataminotransferase (AST), Glutamatdehydrogenase (GLDH), γ -Glutamyltransferase (GGT), Glukose, Albumin, Gesamteiweiß, Bilirubin und Harnstoff. Untersucht wurden die Laborbefunde von 77 klinisch kranken Kaninchen mit zytologisch oder histopathologisch, eindeutig diagnostizierten Hepatopathien in Hinblick auf Häufigkeitsverteilungen, Abhängigkeiten der Leberparameter von den Diagnosen und Korrelationen der Parameter untereinander. Von 77 Kaninchen mit nachgewiesener Hepatopathie lagen bei 33 Tieren (42,9 %) die Werte aller gemessenen Leberparameter im Referenzbereich, bei 44 der Kaninchen (57,1 %) lag der Wert mindestens eines Leberparameters außerhalb des Referenzbereiches. Am häufigsten trat die Hepatolipidose (40/77) auf, gefolgt von Entzündungen (35/77). Die häufigste Aktivitätssteigerung zeigte die AST (70,0 %; 20/77), während die AP-Aktivität in keinem Fall oberhalb des Referenzbereiches lag. Signifikante ($p < 0,05$) Abhängigkeiten mit hohen Sensitivitäten ergaben sich für erhöhte Bilirubinkonzentrationen bei Kaninchen mit Neoplasie und erniedrigte Harnstoffkonzentrationen bei Kaninchen mit Leberfibrose. Signifikante und hohe Korrelationen ($p \leq 0,001$; $r > 0,9$) wurden für die Paarungen AST/ALT, GGT/ALT, GGT/AST und Bilirubin/GGT errechnet, signifikante, jedoch niedrigere Korrelationen ($p \leq 0,001$; $r = 0,5-0,9$) für die Paarungen GLDH/ALT und GLDH/AST. Die Studie zeigte, dass AST, GLDH, ALT und GGT, nicht jedoch die AP, beim Kaninchen geeignete Leberparameter darstellen, um Hepatopathien zu ermitteln.

VI SUMMARY

The aim of this study was to retrospectively examine the sensitivity and clinical relevance of liver parameters (alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), aspartate aminotransferase (AST), glutamate dehydrogenase (GLDH), gamma-glutamyltransferase (GGT), glucose, albumin, total protein, bilirubin and urea) in the diagnosis of hepatic diseases (hepatic lipidosis, inflammation, diseases of the bile duct, neoplasia, cirrhosis, fibrosis, other liver diseases) in the rabbit. The laboratory results from 77 clinically sick rabbits with a cytologically or histopathologically confirmed diagnosis of hepatic disease in terms of frequency distributions, dependency of liver parameters on the diagnoses, and correlation between the parameters, were analysed. In 33 of the 77 rabbits with confirmed hepatic disease all the measured liver parameters were within the reference range (42.9%), and in 44 of the rabbits (57.1%), at least one liver parameter was outside the reference range. Hepatic lipidosis occurred most frequently (40/77), followed by inflammation (35/77). The most frequent increase in activity was found with AST (70.0%, 20/77), whereas AP activity did not exceed the reference range in any case. Significant ($p < 0.05$) dependencies with high sensitivities were found for increased bilirubin concentrations in rabbits with neoplasia and decreased urea concentrations in rabbits with liverfibrosis. Significant and high correlations ($p \leq 0,001$; $r > 0.9$) were noted for AST/ALT, GGT/ALT, GGT/AST and bilirubin/GGT; significant yet lower correlations ($p \leq 0,001$; $r = 0.5\text{--}0.9$) were found for GLDH/ALT and GLDH/AST. The study demonstrated that AST, GLDH, ALT and GGT are suitable liver parameters for identifying hepatic diseases in the rabbit, whereas AP is not useful.

VII LITERATURVERZEICHNIS

- Abdel-Ghaffar F, Marzouk M, Ashour MB, Mosaad MN. Effects of *Eimeria labbeana* and *E. stiedai* infection on the activity of some enzymes in the serum and liver of their hosts. *Parasitol Res* 1990; 76: 440–3.
- Adjarov D, Popov S, Ivanov E. Studies on the mechanism of the changes in serum and liver. *Enzyme* 1976; 21: 1–7.
- Allison RW. Laboratory Evaluation of the Liver. In: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, eds. Iowa: John Wiley & Sons; 2012: 401–24.
- Al-Quraishy S, Metwaly MS, Dkhil MA, Abdel-Baki A-AS, Wunderlich F. Liver response of rabbits to *Eimeria coecicola* infections. *Parasitol Res* 2011; 110: 901–11.
- Amelung D. Untersuchungen zur Größe der Eliminationsgeschwindigkeit von Fermenten aus dem Kaninchenserum. *Hoppe-Seyler's Zeit Physiol Chem* 1960; 318: 219–28.
- Benson KG, Paul-Murphy J. Clinical pathology of the domestic rabbit. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 1999; 2: 539–52.
- Bogin F, Fischer B, Sommer H. Half lives of Glutamic-Oxalacetic-Transaminase Alkaline Phosphatase and Lactic-Dehydrogenase in Rabbit Blood. *Zbl Vet Med A* 1977; 24A: 72–5.
- Böttcher A, Müller K. Labordiagnostische Veränderungen bei Kaninchen mit Magendilatation. 24. Jahrestagung der DVG-FG Innere Medizin und Labordiagnostik. *Tierärztl Praxis* 2016; V12 A: 4–5.
- Boyd JW. The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals. *Vet Clin Pathol* 1983; 12: 9–24.
- Brandao CG, Ferreira HHA, Piovesana H, Polimeno NC, Ferraz JGP, Nucci de G, Pedrazzoli JJr. Development of an experimental model of liver cirrhosis in rabbits. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 987–90.

- Braun JP, Benard P, Burgat V, Rico AG. Gamma Glutamyl Transferase in domestic animals. *Vet Res Commun* 1983; 6: 77–90.
- Cam Y, Atasever A, Eraslan G, Kibar M, Atalay Ö, Beyaz L, Inci A, Liman BC. *Eimeria stiedae*: Experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. *Exp Parasitol* 2008; 119: 164–72.
- Campbell TW. Chemical Chemistry of Mammals: Laboratory Animals and Miscellaneous Species. In: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, eds. Iowa: John Wiley & Sons; 2012: 571–81.
- Clampitt RB, Hart RJ. The tissue activities of some diagnostic enzymes in ten mammalian species. *J Comp Path* 1978; 88: 607–21.
- Clinical Chemistry of Laboratory Animals. Loeb WF, Quimby FW, eds. New York: Pergamon Press 1989: 237–78.
- Ewringmann A, Göbel T. Untersuchungen zur Klinik und Therapie der Enzephalitozoonose beim Heimkaninchen. *Kleintierprax* 1999; 44: 357–72.
- Fausto N, Weber EM. Liver regeneration. In: *The liver: Biology and Pathobiology*. 3rd ed. Arias M, Boyer JL, Fausto N, eds. New York: Raven Press; 1994: 1059–84.
- Fekete S, Huszenicza G. Effects of T-2 Toxin on Ovarian Activity and Some Metabolic Variables of Rabbits. *Lab anim Sci* 1993; 43: 646–9.
- Ferreira PG, Costa-E-Silva A, Monteiro E, Oliveira MJR, Aguas AP. Transient decrease in blood heterophils and sustained liver damage caused by calicivirus infection of young rabbits that are naturally resistant to rabbit haemorrhagic disease. *Research Vet Science* 2004; 76: 83–94.
- Ferreira PG, Costa-E-Silva A, Monteiro E, Oliveira MJR, Aguas AP. Liver enzymes and ultrastructure in rabbit haemorrhagic disease (RHD). *Vet Res Commun* 2006; 30: 393–401.
- Fischer B. Klinisch-chemische Untersuchungen im Blut weiblicher Kaninchen: Bestimmung von Referenzbereichen, Korrelationen, Einflussfaktoren und

Beziehungen zu Produktionsleistungen. Diss. Agrar, Bonn: Landwirtschaftl Fakultät; 1977.

Fitzgerald AL, Fitzgerald SD. Hepatic lobe torsion in a New Zealand white rabbit. Canine Practice 1992; 17: 16–9.

Förg AO. Der Einfluss von Druck- und Temperaturveränderungen auf Kleintiere. Diss Vet Med, München: LMU; 1970.

Fox RR, Laird CW. Biochemical parameters of clinical significance in rabbits II. Diurnal variations. J Hered 1970; 61: 265–8.

Fox RR. The Rabbit. In The clinical chemistry of laboratory animals. 1st ed. Loeb WB, Quimby WB, eds. New York: Pergamon Press 1989: 41–6.

Gascon M, Verd M. The study of biochemical profiles in diarrheal rabbits. J Appl Rabbit Res 1985; 8: 141–3.

Gomez-Bautista M, Rojo-Vasquez FA, Alunda JM. The effect of the host's age on the pathology of *Eimeria stiedai* infection in rabbits. Vet Parasitol 1987; 24: 47–57.

Gough A. Laboratory findings. In: Differential Diagnosis in Small Animal Medicine. 1st ed. Gough A, ed. Oxford: Blackwell Publishing: 292–381.

Graham JE, Orcutt CJ, Casale SA, Ewing PJ, Basseches J. Liver lobe torsion in rabbits: 16 cases (2007 to 2012). J Exot Pet Med 2014; 23: 258–65.

Hadjis NS, Blenkarn JJ, Hatzis G, Adam A, Beacham J, Blumgart LH. Patterns of serum alkaline phosphatase activity in unilateral hepatic duct obstruction. Surgery 1990; 107: 193–200.

Harcourt-Brown F. Anorexia in rabbits. Diagnosis and treatment. In Pract 2002; 9: 450–67.

Harcourt-Brown F. Clinical pathology. In: Textbook of Rabbit Medicine. Harcourt-Brown F, ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2002: 140–64.

Harcourt-Brown FM, Baker SJ. Parathyroid hormone, haematological and biochemical parameters in relation to dental disease and husbandry in pet rabbits. J Small Anim Pract 2001; 42: 130–6.

- Harcourt-Brown FM, Harcourt-Brown SF. Clinical value of blood glucose measurement in pet rabbits. *Veterinary Record* 2012; 170 (26): 674.
- Hartmann K, Berg G, Schmid S. Rule-Outs für die Kleintiermedizin. Hannover: Schlütersche; 2011.
- Häussinger D, Löffler G. Leber - Zentrales Stoffwechselorgan. In: Biochemie und Pathobiochemie. Heinrich PC, Müller M, Graeve L, Hrsg. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2014: 770–86.
- Hebold G, Bleuel H. Standardwerte im Vollblut und Serum beim Kaninchen. *Arzneim Forsch* 1973; 23: 1079–81.
- Hein B, Lämmle E. Veränderung der Enzymaktivitäten im Serum bei *Eimeria stiedai* infizierten Kaninchen. *Z Parasitenk* 1978; 57: 199–211.
- Hein B. Zur Pathophysiologie der Gallengangscoccidiose des Kaninchens. Diss med vet, Gießen: FU; 1977.
- Hein J, Hartmann K. Labordiagnostische Referenzbereiche bei Kaninchen. *Tierärztl Prax* 2003; 31(K): 321–8.
- Hein J. Für Studium und Praxis: Anorexie beim Kaninchen - diagnostische Aufarbeitung und erster therapeutischer Ansatz. *Tierärztl Prax* 2009; 37: 129–38.
- Hein J. Labordiagnostische Referenzbereiche bei Kaninchen und Meerschweinchen. Diss med vet, München: LMU; 2002.
- Hermanns W. Leber. In: Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. Dahme E, Weiss E, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 1999: 197–232.
- Hoffmann WE, Kramer J, Main AR, Torres JL. Clinical Enzymology. In: The
- Jean-Blain C, Durix, A. Effects of dietary lipid level on ketonaemia and other
- Jenkins RJ. Rabbit and Ferret Liver and Gastrointestinal Testing. In: Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. Fudge AM, ed. Philadelphia: Saunders 2000: 291–304.

- Joyner LP, Catchpole J, Berret S. *Eimeria stiedai* in rabbits: the demonstration of responses to chemotherapy. *Res Vet Sci* 1983; 34: 64–7.
- Kay HD. The phosphatases of mammalian tissues. *J Biochem* 1928; 22: 855–66.
- Keller P. Enzymaktivitäten bei kleinen Haus- und Laboratoriumstieren: Organanalysen, Plasmaspiegel und intrazelluläre Verteilung. *Kleintierprax* 1979; 24: 51–68.
- Kendlinger H. Untersuchungen zur Haltung und Fütterung des Heimkaninchens unter besonderer Berücksichtigung klinisch-chemischer Parameter. *Diss med vet. München: LMU*; 1983.
- Kozma C, Macklin W, Cummins LM, Mauer R. The anatomy, physiology and biochemistry of the rabbit. In: *The Biology of the Laboratory Rabbit*. Weisbroth SH, Flatt RE, Kraus AL, eds. New York: Academic Press 1974: 50–72.
- Kraft W, Dürr UM, Bostedt H, Heinritzi K, Füll M. Leber. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005: 186–219.
- Kraft W, Füll M, Bostedt H, Heinritzi K. Klinische Endokrinologie. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005: 297–321.
- Kriegel T, Schellenberger W. Enzyme - Grundkonzepte der Biokatalyse. In: *Biochemie und Pathobiochemie*. Heinrich PC, Müller M, Graeve L, Hrsg. Berlin, Heidelberg: Springer 2014: 101–14.
- Kriegel T, Schellenberger W. Regulation der Enzymaktivität. In: *Biochemie und Pathobiochemie*. Heinrich PC, Müller M, Graeve L, Hrsg. Berlin, Heidelberg: Springer 2014: 115–29.
- Krishna L, Dawra RK, Vaid J. An outbreak of aflatoxicosis in Angora Rabbits. *Vet Hum Toxicol* 1991; 33: 159–61.
- Lafontane M. Alpha-adrenergic responses in rabbit white fat cells: the influence of obesity and food restriction. (Abstract). *J Lipid Res* 1981; 22: 1084–93.

- Licois D, Coudert P, Mongin P: Changes in hydromineral metabolism in diarrhoeic rabbits 2. study of the modifications of electrolyte metabolism. *Ann Rech Vet* 1978; 9: 453–64.
- Löffler G, Müller M. Glukose-Schlüsselmolekül des Kohlenhydratstoffwechsels. In: *Biochemie und Pathobiochemie*. Heinrich PC, Müller M, Graeve L, Hrsg. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2014: 183–98.
- Mastai R, Laganieri S, Wanless IR, Giroux L, Rocheleau B, Huet PM. Hepatic sinusoidal fibrosis induced by cholesterol and stilbestrol in the rabbit. *Hepatology* 1996; 24: 865–70.
- Matthes S, Ragnitz S. Serumenzymaktivitäten bei gesunden und darmkranken Jungmastkaninchen. *Tierarztl Umsch* 1999; 54: 158–64.
- Mc Laughlin RM, Fish RE. Clinical Biochemistry and Hematology. In: *The biology of the laboratory rabbit*. Manning PJ, ed. San Diego: Academic Press 1997: 111–24.
- Meredith A, Raymont L. Liver disease in rabbits. *J Exot Pet Med* 2000; 9: 146–52.
- Metechkina A, Mishunina TM. Changes in alanin amino transferase and aspartat aminotransferase activity in some tissues of rabbits with hydrocortisone and acth administration. *Ukr Biochem J* 1977; 49(1): 72–7.
- Meuten D. Laboratory Evaluation and Interpretation of the Urinary System. In: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, eds. New York: John Wiley & Sons 2012: 323–77.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: *Textbook of Clinical Chemistry*. Tietz NW, ed. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders 1986: 619–774.
- Mundhenk L, Wohlsein P. Leber, Gallensystem und exokrines Pankreas. In: *Spezielle Pathologie für die Tiermedizin*. Baumgärtner W, Gruber AD, Hrsg. Stuttgart: Enke Verlag 2015: 75–114.

- Munoz ME, Gonzales J, Esteller A. Bile pigment formation and excretion in the rabbit. *Comp Biochem Physiol Part A* 1986; 85: 67–71.
- Nasledova ID, Silnitsky PS. Some age parcularities of lipid and carbohydrat metabolism and the state of aortic wall in female rabbits. *Biull Eksper Biol Med* 1972; 73: 19–22.
- Neumann S. Leber. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 3nd ed. Moritz, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2014: 215–75.
- Oglesbee BL, Jenkins JR. Gastrointestinal diseases. In: *Ferrets, rabbits and Rodents. Clinical Medicine and Surgery*. 3rd ed. Quesenberry KE, Carpenter JW, eds. Missouri: Saunders 2012: 193–204.
- plasma parameters related to glucose and fatty acid metabolism in the rabbit during fasting. *Reprod Nutr Develop* 1985; 25: 345–54.
- Ragnitz S. Investigations on enzyme activities in the serum of healthy and sick young rabbits. *Diss med vet*. Hannover: Tierärztl Hochschule; 1993.
- Ratanasavanh D, Magdalou J, Antoine B, Galteau M-M, Siest G. Gamma-Glutamyltransferase activity of liver plasma membranes in phenobarbital-treated rabbits. *Pharmacol Res Commun* 1981; 13: 909–91.
- Reznik GK, Padberg G. Diethylnitrosamine-induced metastasizing hepatocellular carcinomas in New Zealand white rabbits. *Journal Cancer Res Clin Oncol* 1991; 117: 123–9.
- Röhm K. Funktioneller Aminosäurestoffwechsel. In: *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. 9. Aufl. Heinrich PC, Müller M, Graeve L, Hrsg. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2014: 325–51.
- Roomi MW, Goldberg DM. Comparison of γ -Glutamyl transferase induction by Phenobarbital in the rat, guinea pig and rabbit. *Biochem Pharmacol* 1981; 30: 1563–71.
- Rothuizen J, Meyer HP. History, physical examination, and signs of liver disease. In: *Textbook of veterinary internal medicine*. 5th edn. Ettinger SJ, Feldmann EC, eds. Philadelphia: Saunders Company 2000: 1277–93.

- Saito K, Hasegawa A. Diseases and outcomes in rabbits with high BUN levels. *J Vet Med Sci* 2003; 65: 625–8.
- San-Martin-Nunez V, Ordonez-Escudero D, Alunda JM. Preventive Treatment of Rabbit Coccidiosis with a-Difluoromethylornithine. *Vet Parasitol* 1988; 30: 1–10.
- Saunders R, Davies RR. Common Laboratory Abnormalities. In: Notes on rabbit internal medicine. 1st ed. Saunders RA, Davies RR, eds. Oxford, Iowa, Victoria: Blackwell 2005: 69–87.
- Saunders R, Davies RR. Organ Systems. In: Notes on rabbit internal medicine. 1st ed. Saunders RA, Davies RR, eds. Oxford, Iowa, Victoria: Blackwell 2005: 89–173.
- Shiga J, Wataru M. Protracted histopathological change of the liver necrosis induced by Schwartzman reaction. *Acta Pathol Jpn* 1985; 35: 103–7.
- Singla LD, Juyal PD, Sandhu BS. Pathology and Therapy in Naturally *Eimeria stiedae*-Infected Rabbits. *J Protozool Res* 2000; 10: 185–91.
- Sinha KP, Saran A. Serum transaminase levels during the course of repeated administration of carbon tetrachloride to rabbits. *Ind J Med Res* 1972; 60: 1378–85.
- Stanke NJ, Graham JE, Orcutt CJ, Reese CJ, Bretz BK, Ewing PJ, Basseches J. Succesful outcome of hepatectomy as treatment for liver lobe torsion in four domestic rabbits. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 238: 1176–238.
- Sulakhe SJ, Lauth WW. The activity of hepatic γ -Glutamyltranspeptidase in various animal species. *Comp Biochem Physiol* 1985; 82: 263–4.
- Tennant BC, Balazs T, Baldwin BH, Hornbuckle WE, Castleman WL, Boelsterli U, Kallefelz FA. Assessment of hepatic function in rabbits with steroid-induced cholestatic liver injury. *Fundam Appl Toxicol* 1981; 1: 329–33.
- Tille D, Wirthgen B, Bergner H. Der Einfluss der Eiweißernährung auf die Schilddrüsensekretionsrate und einige Enzymaktivitäten des intermediären Eiweißstoffwechsels beim Kaninchen. *Arch Geflügelz Kleintierkd* 1969; 18: 123–31.

- Tsukamoto H, Matsuoka MD, French SW. Experimental Models of Hepatic Fibrosis: a Review. *Seminars in liver disease* 1990; 10: 56–65.
- Vetesi F, Kutas F. Muroid enteritis in the rabbit associated with *E. coli*. *Acta Vet Hung* 1974; 24: 303–11.
- Wanless IR, Belgiorno J, Huet P-M. Hepatic sinusoidal fibrosis induced by cholesterol and stilbestrol in the rabbit: 1. Morphology and inhibition of fibrogenesis by dipyridamole. *Hepatology* 1996; 24: 855–64.
- Weisbroth SH. Neoplastic Diseases. In: *The biology of the laboratory rabbit*. 2nd ed. Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE, eds. San Diego, New York: Academic press 1994: 259–78.
- Wenger S, Barrett EL, Pearson GR, Sayers I, Blakey C, Redrobe S. Liver lobe torsion in three adult rabbits. *J Small Anim Pract* 2009; 50: 301–5.
- Willard MD, Twedt DC. Lebererkrankungen. In: *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*. Willard MD, Twedt H, Hrsg. München: Urban & Fischer 2006: 287–304.
- Wilson RB, Holscher MA, Sly DL. Liver lobe torsion in a rabbit. *Lab Anim Sci* 1987; 37: 506–7.
- Winkelmann J. Infektiösität und Pathogenität von *Capillaria hepatica* im SPF Kaninchen. *Diss med vet*; Gießen: Justus-Liebig-Universität 1974.

VIII DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Hartmann für die Überlassung des Themas, ihre wissenschaftliche Anleitung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Walter Hermanns möchte ich besonders danken für die Überlassung der Daten und die Unterstützung.

Ebenso gilt mein großer Dank Frau Dr. Hein, ohne deren Hilfe und große Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. Carola Sauter-Louis, die mir mit Rat und Tat bei allen statistischen Fragen zur Seite stand.

Auch möchte ich Herrn Dr. Majzoub danken, der mir bei allen Fragen zur Pathologie eine große Hilfe war und allen Kollegen für ihre tatkräftige Unterstützung.

Meiner Familie, die mich immer unterstützt hat, möchte ich für ihre Geduld und Rücksicht von ganzem Herzen danken.